

117  
TC212/  
2857

DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA

***ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA:  
NUEVOS ASPECTOS  
FISIOPATOLÓGICOS, CLÍNICOS  
Y TERAPÉUTICOS***

Reg. F.M. 25 777



Memoria que presenta D. ALFREDO JOSÉ LUCENDO VILLARÍN  
para optar al grado de Doctor en Medicina por la  
Universidad Autónoma de Madrid.  
Madrid, 2006

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la  
fecha, acordó calificar la presente Tesis Doctoral  
con la censura de Sobresaliente

Madrid, dieciocho de abril de dos mil seis *cum laude, unanimidad*



Francisco Arnalich




M. TERESA CABALLERO

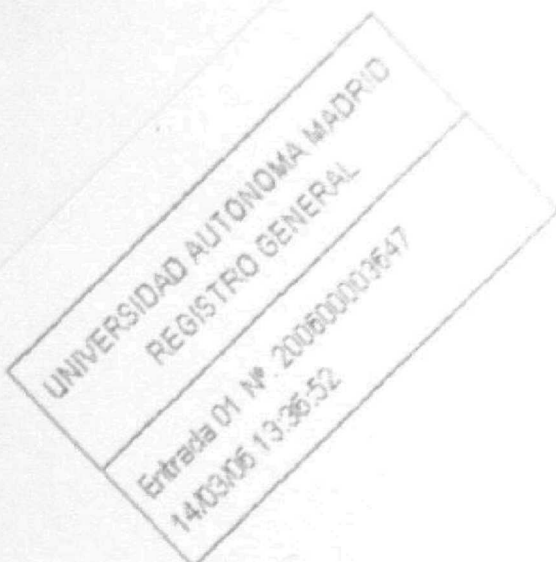


Rodolfo Álvarez Sola



Juan Benedit

  
Pedro Inés Baturo





El presente trabajo ha sido realizado en el Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario La Paz, en estrecha colaboración con el Servicio de Alergología, el Departamento de Anatomía Patológica, la Unidad de Investigación de este hospital y el Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

*"La ciencia es fruto de la paciencia y de la perseverancia"*

(Santiago Ramón y Cajal)

Que a través de esta obra se logre la difusión de los conocimientos de nuestra cultura y de la medicina, para que así se pueda contribuir a la salud de la población y a la mejora de la calidad de vida de los habitantes de nuestro país.

Al Dr. Juan Carlos García, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

A la Dra. Rosa María García, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

A los médicos de la Unidad de Medicina Interna del Hospital General de la Universidad de la Habana, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los médicos de la Unidad de Medicina Interna del Hospital General de la Universidad de la Habana, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

A los médicos de la Unidad de Medicina Interna del Hospital General de la Universidad de la Habana, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

A los médicos de la Unidad de Medicina Interna del Hospital General de la Universidad de la Habana, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

A los médicos de la Unidad de Medicina Interna del Hospital General de la Universidad de la Habana, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

A los médicos de la Unidad de Medicina Interna del Hospital General de la Universidad de la Habana, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

A los médicos de la Unidad de Medicina Interna del Hospital General de la Universidad de la Habana, por su colaboración en la redacción de este libro, por su apoyo y por su confianza en mí.

Quiero mostrar en estas breves líneas mi gratitud hacia todas aquellas personas que han contribuido de alguna manera al desarrollo de este trabajo. Muchos son buenos amigos, todos excelentes compañeros. Cuanto hicieron conmigo lo han hecho desinteresadamente, y todos me han mostrado su apoyo y entusiasmo para el estudio de esta rara enfermedad. Mi agradecimiento va más allá de lo que se puede expresar en esta breve mención, pero al menos deseo dejar una muestra de ello.

Al Dr. Juan Manuel Pascual Turrión, mi maestro de endoscopia. Durante el primer año de residencia despertó en mí el interés por la que entonces consideramos una rara observación clínica. Su entusiasmo en este trabajo ha sido pieza clave para su desarrollo.

A la Dra. Pilar Castillo Grau, quien realizó los estudios funcionales esofágicos en nuestros pacientes. Por su colaboración siempre dispuesta, más allá de lo que obliga la rutina y la amistad. Su trabajo ha permitido obtener datos fundamentales en el conocimiento de la fisiopatología de esta enfermedad.

A los médicos del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario La Paz que me remitieron sus sospechas clínicas de Esofagitis Eosinofílica. A ellos debo la serie prospectiva de casos más amplia descrita hasta la fecha. En los casi cuatro años que hemos compartido juntos me enseñaron su ciencia y su arte, e hicieron de mi residencia una etapa inolvidable.

A los Dres. Marta Navarro Sánchez, Emilio Burgos Lizalde, Javier Alves Ferreira y Javier Larrauri Martínez, y a Petri Rubio Amado, del Departamento de Anatomía Patológica. Fueron pieza clave en el diagnóstico de nuestros pacientes y los primeros en colaborar en este estudio, cuando aún era sólo un proyecto. Ofrecieron sus medios técnicos, su paciencia para conmigo, su tiempo y su ciencia.

A los Dres. María Teresa Caballero Molina y Antonio Letrán Camacho, del Servicio de Alergología, y a la Dra. Flor Martín Muñoz, del Hospital Infantil La Paz. Ellos fueron los artífices de una de las partes más complejas del estudio y de la asistencia a nuestros pacientes; siempre me ofrecieron su magnífica colaboración en este trabajo.

A la Dra. Carmen Comas Redondo, siempre dispuesta a dedicarme su tiempo y sus conocimientos estadísticos, sólo comparables con su gran calidad humana.

Al Profesor Dr. Luis Santamaría, del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, por sus enseñanzas en estereología y su colaboración desinteresada en el estudio morfométrico.

A todas las enfermeras y auxiliares de la Unidad de Endoscopia y del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital La Paz, que colaboraron pacientemente conmigo en la realización de las sucesivas endoscopias y obtención de las biopsias.

A la Dra. M<sup>a</sup> del Pilar Martínez Fernández, de la Unidad de Investigación del Hospital La Paz, por su amistad, la revisión del texto, sus sabios comentarios y por sus consejos para la consecución de este proyecto. A la Dra. Teresa Belló Heredia, coordinadora de esta Unidad de Investigación, por su inestimable colaboración en los



estudios de biología molecular y sus aportaciones al conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad. Nos esperan nuevos proyectos juntos en el estudio de esta enfermedad.

A la Dra. María Teresa Montero Vega, del Servicio de Investigación del Hospital Ramón y Cajal, por su gran interés en esta desconocida enfermedad desde el comienzo de este estudio. Me ofreció desinteresadamente su tiempo y discutió pacientemente conmigo los resultados de este trabajo.

A los directores de esta Tesis Doctoral, los Dres. Paloma González Sanz-Agero y José Carlos Erdozaín Sosa, por su continuo apoyo y estímulo, y por sus esfuerzos para la consecución de este trabajo. Además de excelentes profesionales son ante todo excelentes amigos.

A Eisai Farmacéutica, Allmiral Prodesfarma y Laboratorios Pfizer, quienes creyeron en el buen fin de este proyecto y colaboraron en la adquisición de los sueros inmunorreactivos para el estudio histopatológico.

Por último, a todos los pacientes que se prestaron a colaborar en este estudio, más allá de la simple asistencia médica. Ellos se beneficiaron de un tratamiento, pero todos colaboraron en ampliar el conocimiento sobre esta enfermedad.

# ÍNDICE

## \* ABREVIATURAS

## \* INTRODUCCIÓN

## 1. ANATOMÍA DEL OÍDO

### 1.1. Oído externo

#### 1.1.1. Pabellón auricular

#### 1.1.2. Conducto auditivo externo

#### 1.1.3. Membrana timpánica

### 1.2. Oído medio

#### 1.2.1. Malleus y yunque

#### 1.2.2. Martillo y yunque

### 1.3. Oído interno

#### 1.3.1. Vólvulo

#### 1.3.2. Caracol

## 2. FISIOLÓGICA DEL OÍDO

### 2.1. Audición

### 2.2. Equilibrio

### 2.3. Vestibular

### 2.4. Auditivo

### 2.5. Equilibrio

### 2.6. Vestibular

### 2.7. Auditivo

### 2.8. Equilibrio

### 2.9. Vestibular

### 2.10. Auditivo

### 2.11. Equilibrio

### 2.12. Vestibular

# ÍNDICE

**ÍNDICE:**

♦ ABREVIATURAS	1
♦ INTRODUCCIÓN	4
1. ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DEL ESÓFAGO	5
2. FUNCIONES DEL ESÓFAGO	7
2.1. Función Motora	
2.1.1. Peristalsis primaria	7
2.1.2. Peristalsis secundaria y terciaria	7
2.1.3. Adaptación estructural del esófago a la función motora	8
3. CONCEPTOS BÁSICOS DE INFLAMACIÓN	8
3.1. Mecanismos y células de la inmunidad natural	9
3.2. Mecanismos y células de la inmunidad adquirida	10
4. REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD. ALERGIA DIGESTIVA	12
4.1. Mucosa digestiva y GALT. Tolerancia inmunológica	12
4.2. Diferencias inmunes a lo largo del tracto digestivo	13
4.3. Alergia gastrointestinal. Formas clínicas y mecanismos	13
5. EOSINÓFILOS GASTROINTESTINALES	14
6. EOSINÓFILOS Y PATOLOGÍA DIGESTIVA	16
7. ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA	17
7.1. Definición	17
7.2. Notas históricas	18
7.3. Enfermedad emergente	18
7.4. Aspectos clínicos de la Esofagitis Eosinofílica	19
8. BASES FISIOPATOLÓGICAS DE LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA	20
8.1. Infiltrado inflamatorio en la mucosa	20
8.2. Mecanismos fisiopatológicos en la EE.	21
8.2.1. Células inmunocompetentes en la mucosa esofágica.	22
8.2.2. Estímulos químicos para el reclutamiento de eosinófilos al esófago en la EE.	23
8.2.3. Aspectos oscuros en la fisiopatología de la Esofagitis Eosinofílica	25
9. OPCIONES TERAPÉUTICAS EN LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA	26
9.1. Tratamiento dietético	27
9.2. Tratamiento farmacológico	27
9.3. Tratamientos endoscópicos	27
9.3. Cuestiones no aclaradas en el tratamiento de la Esofagitis Eosinofílica	27
10. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y JUSTIFICACIÓN DE ESTE ESTUDIO	28

♦ OBJETIVOS	29
♦ PACIENTES Y MÉTODOS	31
1. PACIENTES	32
2. EXPLORACIÓN ENDOSCÓPICA	33
3. PROCESAMIENTO DE LAS BIOPSIAS Y ANÁLISIS HISTOLÓGICO	33
4. ESTUDIO pH-MÉTRICO Y EXCLUSIÓN DE EOSINOFILIA POR REFLUJO GASTROESOFÁGICO	34
5. ESTUDIO MANOMÉTRICO DE LA DINÁMICA ESOFÁGICA	35
6. VALORACIÓN CLÍNICA DE LOS SÍNTOMAS ESOFÁGICOS	36
7. TRATAMIENTO DE LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA	37
8. ESTUDIO ALERGOLÓGICO	38
9. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA INMUNOHISTOQUÍMICA	41
10. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA MUCOSA ESOFÁGICA	42
11. ANÁLISIS CUANTITATIVO Y MORFOMÉTRICO DE ELEMENTOS CELULARES DEL TEJIDO MEDIANTE ESTEREOLOGÍA	43
13. EXTRACCIÓN DE ARN DE CITOCINAS Y PCR EN TIEMPO REAL	44
12. CONSULTA DE ARCHIVOS Y MATERIAL BIBLIOGRÁFICO	45
13. ESTUDIO ESTADÍSTICO	45
♦ RESULTADOS	47
1. PACIENTES.	48
1.1. Epidemiología de la EE en nuestro medio	48
1.2. Pacientes incluidos en el estudio	
1.2.1. Motivo de consulta	49
1.2.2. Antecedentes clínicos	49
1.2.3. Tratamiento administrado	51
2. ESTUDIO ALERGOLÓGICO	52
2.1. Antecedentes alérgicos	52
2.2. Estudios de sensibilización mediante <i>prick test</i>	52
2.3. Resultados analíticos	53



3. HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS	54
2.1. Endoscopia inicial o diagnóstica	54
2.2. Endoscopia post-tratamiento	55
4. ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO	57
5. CORRELACIÓN ENDOSCÓPICO-HISTOLÓGICA	60
6. EXPLORACIÓN FUNCIONAL ESOFÁGICA	62
3.1. pH-metría ambulatoria de 24 horas	62
3.2. Manometría estacionaria esofágica	62
3.2.1. Esfínter esofágico superior	62
3.2.2. Esfínter esofágico inferior	62
3.2.3. Cuerpo esofágico	63
7. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	65
8. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO Y ESTEREOLÓGICO	68
9. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE IL-5 Y EOTAXINA-1	73
♦ DISCUSIÓN	76
1. EPIDEMIOLOGÍA	77
2. ENDOSCOPIA	80
3. MANOMETRÍA ESTACIONARIA Y pH-METRÍA ESOFÁGICAS	87
3.1. Origen del trastorno motor en la EE	87
3.2. Mecanismos del trastorno motor en la EE	88
3.3. Trastornos manométricos en la EE	91
3.3.1. Cuerpo esofágico	93
3.3.2. Esfínter esofágico superior	95
3.3.3. Esfínter esofágico inferior. Implicaciones en la pH-metría	95
4. HISTOPATOLOGÍA	98
5. INMUNOHISTOQUÍMICA Y ESTEREOLÓGÍA	103
5.1. Células de Langerhans	103
5.2. Linfocitos en el epitelio esofágico	104
5.3. Mastocitos en el epitelio esofágico	107
6. BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA EE	110
8. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	112
9. HIPÓTESIS FISIOPATOLÓGICA PARA LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA	116
9.1. Sensibilización antigénica en la EE	116
9.2. Mecanismos de la inflamación esofágica en la EE	119
9.3. Origen de las alteraciones morfológicas y funcionales	120

0. TRATAMIENTO DE LA ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA	121
10.1. Tratamientos basados en el control de la exposición a alérgenos	122
10.2. Tratamientos farmacológicos	122
10.3. Tratamientos endoscópicos	126

♦ RESUMEN

♦ CONCLUSIONES

♦ BIBLIOGRAFÍA

♦ ANEXO 1

♦ ANEXO 2

128

134

137

155

158



ADNc	Ácido desoxi-ribonucleico complementario
ADN	Ácido desoxi-ribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ECP	Proteína catiónica del eosinófilo
EDN	Neurotoxina derivada del eosinófilo
EDTA	Ácido etilén diaminotetraacético
EE	Esofagitis eosinofílica
EPO	Peroxidasa eosinofílica
EP-X	Proteína eosinofílica X
ERGE	Enfermedad por reflujo gastroesofágico
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos.
H-E	Hematoxilina y eosina
HPF	Campo de gran aumento (en microscopía óptica, x400 aumentos)
HLA	Antígeno leucocitario humano
Ig E	Inmunoglobulina E
Ig G	Inmunoglobulina G
IL-2	Interleucina 2
IL-3	Interleucina 3
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-13	Interleucina 13
IL-16	Interleucina 16
INF	Interferón
MBP	Proteína mayor básica del eosinófilo
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
mmHg	milímetros de mercurio
PAF	Factor activador de plaquetas
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RANTES	<i>Regulated upon Activation, Normal T cells Expressed and Secreted chemokine)</i>



T <sub>C</sub> 1	Linfocitos T citotóxicos-1
T <sub>C</sub> 2	Linfocitos T citotóxicos-2
TGF $\alpha/\beta$	<i>Transforming growth factor <math>\alpha/\beta</math></i>
T <sub>H</sub> 1	Linfocitos T <i>helper</i> -1
T <sub>H</sub> 2	Linfocitos T <i>helper</i> -2
TNF	Factor de necrosis tumoral
RGE	Reflujo gastroesofágico

## INTRODUCCIÓN



## 1. ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DEL ESÓFAGO.

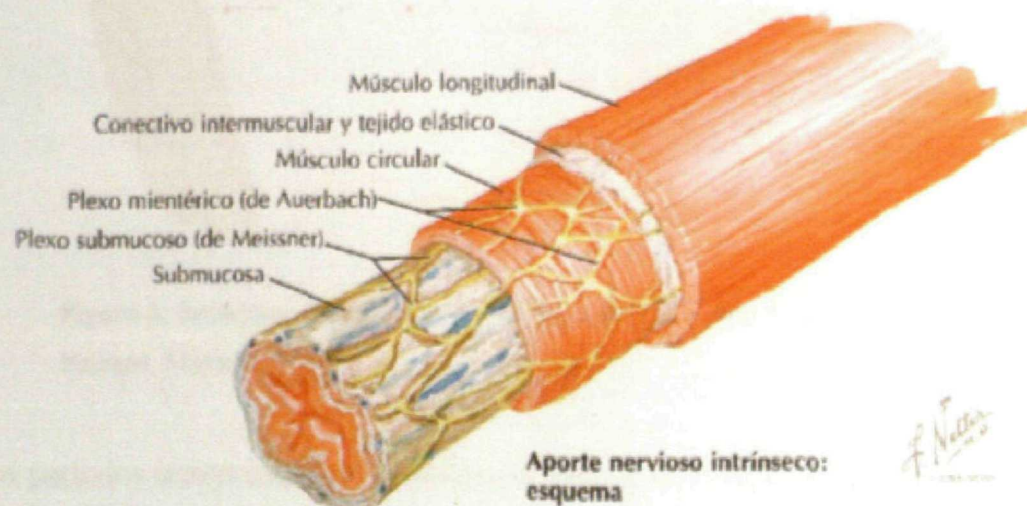
El esófago es el segmento del aparato digestivo que se sitúa entre la faringe y el estómago y cuya función principal es el transporte de los alimentos deglutidos.

Para realizar esta función se dispone como un órgano hueco con forma de tubo, y posee una estructura adaptada, compuesta de cuatro capas. La cubierta interna o mucosa, está formada por un epitelio escamoso estratificado, de estructura histológica similar a la piel.

La mucosa se separa a través de la delgada *muscularis mucosae* de la submucosa, capa que contiene elementos vasculares y linfáticos, neuronas del plexo de Meissner y glándulas de estructura acinar.

Más externamente se localiza la capa muscular propia; es la responsable de la función de transporte. En la parte superior del órgano (entre los 2 y los 6 cm iniciales) se constituye exclusivamente por músculo esquelético y en el tercio inferior exclusivamente por músculo liso, existiendo en la porción intermedia mezcla de ambos tipos de fibras musculares con aumento gradual de las fibras de músculo liso en las porciones distales <sup>1</sup>.

El músculo esofágico se estructura en dos capas, una más interna de disposición circular y organización helicoidal, más gruesa, cuya contracción reduce el calibre de la luz del órgano, y otra más externa y delgada, de disposición longitudinal, que al contraerse reduce la longitud del esófago <sup>2</sup>. Entre ambas se organiza una segunda red de neuronas que constituyen el plexo de Auerbach <sup>3</sup>.

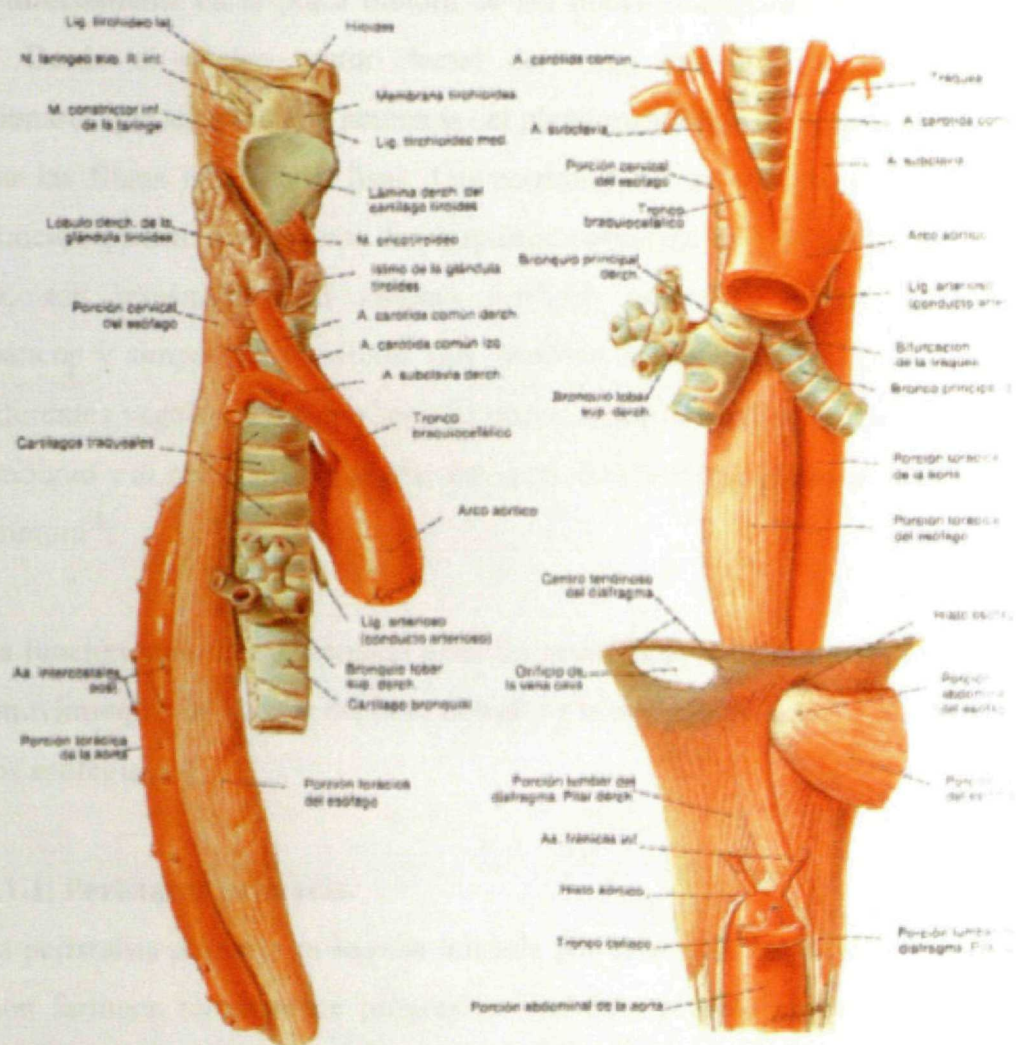


**Figura 1:** Estructuras de la pared esofágica (de: FH Netter, Atlas de Anatomía humana. Masson, 1996).



Externamente el esófago está rodeado de una capa conjuntiva o adventicia. A diferencia del resto de órganos del tracto gastrointestinal, el esófago carece de serosa.

En su porción proximal, el esófago comienza donde el músculo constrictor faringeo fusiona sus fibras con las del músculo cricofaríngeo, una zona funcional denominada *Esfinter Esofágico Superior* y constituida por músculo esquelético. En la parte más distal del órgano existe un área de 2 a 4 cm de longitud en la que las fibras musculares lisas se engrosan de modo asimétrico y que se denomina *Esfinter Esofágico Inferior* o *Cardias* <sup>4</sup>.



**Figura 2:** Relaciones topográficas del esófago (de: FH Netter, Atlas de Anatomía humana. Masson, 1996).

En los periodos interprandiales el esófago se encuentra colapsado, pero se distiende con cada deglución para permitir el paso del bolo alimenticio, hasta 2 cm en sentido anteroposterior y hasta 3 cm en sentido lateral <sup>5</sup>.



## **2. FUNCIONES DEL ESÓFAGO.**

### **2.1. FUNCIÓN MOTORA.**

El avance hacia el estómago del bolo alimenticio ingerido se produce por acción de las contracciones de las capas musculares interna y externa esofágicas.

El músculo del esófago recibe tanto innervación simpática como parasimpática: Neuronas motoras originadas en el núcleo ambiguo del vago, en el bulbo raquídeo, sinaptan directamente en la placa motora de las fibras musculares estriadas del esófago superior. Desde el núcleo motor dorsal del vago también parten fibras motoras preganglionares que sinaptan con neuronas del plexo mientérico de Auerbach<sup>3</sup>, encargadas de innervar las fibras musculares lisas. Las neuronas del plexo submucoso de Meissner poseen función sensitiva y generan los impulsos nerviosos que, procedentes de la pared esofágica, son transmitidos al sistema nervioso central a través de los nervios parasimpáticos y simpáticos torácicos. Los impulsos ascendentes conducidos a través de las vías aferentes vagales se dirigen hacia el núcleo del tracto solitario y desde allí pasan al núcleo ambiguo y al núcleo motor dorsal del vago, donde estas señales pueden influir en la función motora<sup>6</sup>.

La función muscular del órgano debe ser perfectamente coordinada de modo que se generen movimientos de avance del bolo debidos a la activación secuencial de los distintos segmentos esofágicos.

#### **2.1.1. Peristalsis primaria.**

La peristalsis primaria es aquella iniciada por el acto de la deglución en la que una contracción faríngea rápidamente progresiva transfiere al bolo alimentario a través del esfínter esofágico superior hacia el esófago proximal, el cual inicia una contracción circular que continúa a lo largo de la longitud del cuerpo esofágico.

#### **2.1.2. Peristalsis secundaria y terciaria.**

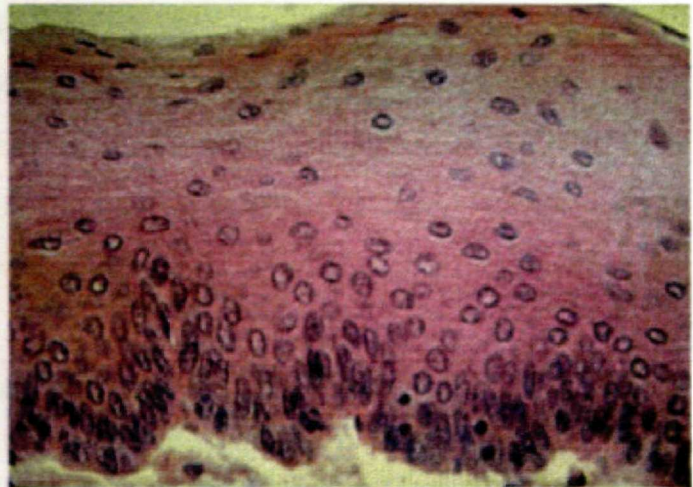
La peristalsis secundaria es una contracción gradual en el cuerpo esofágico no iniciada por la deglución sino por estímulos generados primariamente en la luz del órgano, por ejemplo por la distensión debida a un bolo de alimento no progresado totalmente por la onda peristáltica primaria.



Existe además una peristalsis terciaria que aparece en ausencia de conexiones con el centro de la deglución, en la que un mecanismo local intramural puede originar peristalsis en ese segmento de músculo liso, como un mecanismo de reserva <sup>7</sup>.

### 2.1.3. Adaptación estructural del esófago a la función motora.

Debido a la adaptación estructural que presenta el esófago para la conducción del bolo alimentario deglutido, ésta ha sido la única función atribuida al órgano desde siempre. Este hecho se ha visto motivado, además, por la diferente organización arquitectural de la mucosa esofágica respecto a la del resto de tubo digestivo. El epitelio de revestimiento de los órganos huecos gastrointestinales está constituido por células cúbicas o cilíndricas que se disponen en un solo estrato. La mayoría de ellas muestran especializaciones en su ultraestructura que les confieren capacidades secretorias o absortivas.



**Figura 3:**

**Arriba:** Detalle de la organización histológica del epitelio superficial del esófago, con células planas distribuidas en distintos estratos.

**A la izquierda:** Corte histológico de la pared esofágica que muestra sus distintas capas.

## 3. CONCEPTOS BÁSICOS DE INFLAMACIÓN.

La mucosa del aparato digestivo es una amplia superficie de relación con el medio exterior, que supone una importante vía de contacto del huésped con diferentes tipos de



sustancias y agentes patógenos. A través de la mucosa digestiva el individuo absorbe los nutrientes que precisa para sus funciones biológicas, pero a la vez ésta debe estar dotada de variados mecanismos de defensa, tanto innatos como adquiridos, que protejan al individuo de la acción patógena de los antígenos de la dieta parcialmente digeridos, de las bacterias comensales, de los microorganismos patógenos y de las células epiteliales transformadas, sin perder por ello la capacidad absorbente que se le requiere. Con este fin existen especializaciones funcionales y estructurales en la pared del tubo digestivo, y en ella habitan de modo permanente células de distintas estirpes, derivadas de la médula ósea, con funciones inmunitarias, muchas de ellas agrupadas en forma de folículos o agregados linfoides, que son garantes de la contención y del mantenimiento de los agentes patógenos en el exterior de la mucosa.

Al mismo tiempo, los mecanismos defensivos de la mucosa del tracto gastrointestinal deben poseer capacidad de tolerancia inmunológica de manera que eviten las reacciones de inflamación local inducidas por los agentes patógenos que podrían derivar en lesiones tisulares y alteraciones de la función absorbente. La pérdida de la tolerancia inmunológica está en la base de la ftopatología de muchas enfermedades inflamatorias o inmunológicas del aparato digestivo.

### **3.1. MECANISMOS Y CÉLULAS DE LA INMUNIDAD NATURAL.**

La primera línea de defensa del huésped está constituida por las barreras físico-químicas representadas por la superficies epiteliales del organismo, y sus secreciones en péptidos y enzimas antimicrobianos, moco, opsoninas y sustancias microbicidas, que previenen la adherencia de los patógenos, manteniendo fuera a los parásitos y protegiendo contra la colonización por bacterias y virus. De este modo impiden la penetración de la mayoría de los microorganismos y sustancias a las que el individuo se encuentra expuesto.

Si por diferentes circunstancias un agente patógeno supera estas barreras, se produce una respuesta inflamatoria destinada a la neutralización del patógeno y a la reparación del daño producido. En la primera fase de esta respuesta participan los macrófagos y mastocitos residentes en el tejido, que poseen receptores de superficie capaces de reconocer, unir y fagocitar diferentes antígenos expresados comúnmente sobre la superficie de diferentes microorganismos. Se induce así una activación vascular que permite la extravasación y acumulación tisular de proteínas plasmáticas, incluyendo

componentes del sistema de complemento, y la extravasación selectiva de neutrófilos y monocitos al lugar donde se ha producido la infección. Estas células son fagocitos especializados que eliminan con alta eficacia la mayor parte de los microorganismos y sustancias extrañas que penetran en un tejido. Por otra parte, la inmunidad natural o innata, a través de las células NK o "*natural killer*" ("agresoras naturales"), reconocen la presencia de células del individuo que se encuentran alteradas, infectadas por virus o dañadas en el proceso inflamatorio, y las eliminan.

De este modo, la inmunidad innata proporciona al huésped una línea de defensa a través de mecanismos efectores que atacan al patógeno directamente, actuando inmediatamente tras el contacto con el mismo y no se modifican en su capacidad de defensa al exponerse sucesivamente con el mismo o diferente patógeno.

### 3.2. MECANISMOS Y CÉLULAS DE LA INMUNIDAD ADQUIRIDA.

Cuando un microorganismo evade la inmunidad natural se activa la inmunidad adquirida, que fundamentalmente está destinada a compensar los mecanismos de evasión de la inmunidad innata mediante el desarrollo de una respuesta altamente específica frente a los patógenos, aumentando en magnitud y capacidad de defensa con cada exposición, por lo que se denomina también respuesta adaptativa.

Existen dos tipos de respuesta inmune adaptativa, la inmunidad humoral y la inmunidad celular. Están mediadas por diferentes componentes del sistema inmunitario: En la inmunidad humoral participan moléculas presentes en la sangre, denominadas anticuerpos o inmunoglobulinas y producidas por los Linfocitos B, que actúan como adaptadores flexibles entre el antígeno y el fagocito, ya que poseen una alta especificidad para reconocer y unirse al antígeno y al mismo tiempo se unen a receptores específicos de la membrana del fagocito, permitiendo con ello la fagocitosis. En la inmunidad celular participan los Linfocitos T.

La respuesta inmune específica se inicia mediante la presentación de antígenos a los Linfocitos T, los cuales sólo reconocen antígenos peptídicos unidos a proteínas del huésped que representan el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). Todas las células nucleadas poseen MHC de clase I, que permite la presentación de péptidos propios de la célula, actuando como molécula identificadora de la misma. Sólo unos pocos tipos



de células, generalmente con capacidad fagocítica, expresan en su superficie MHC de clase II, molécula que permite presentar a los linfocitos T péptidos con capacidad antigénica procedentes de elementos exógenos fagocitados. Estas células que expresan MHC de clase II se denominan "*células presentadoras de antígenos*" y están representadas por los monocitos-macrófagos, las células dendríticas (entre ellas las de Langerhans), los linfocitos B y, en el caso de los humanos, las células endoteliales. Los linfocitos T colaboradores o "*helper*" ( $CD4^+$ ) reconocen exclusivamente moléculas presentadas por MHC clase II, y tras la presentación antigénica, los linfocitos T *helper* se activan, proliferan y secretan citocinas. Los linfocitos T citotóxicos o citolíticos ( $CD8^+$ ) reconocen moléculas presentadas por MHC de clase I, y, tras activarse, destruyen células que presentan antígenos extraños, especialmente aquellas infectadas por virus o microorganismos intracelulares.

Los linfocitos T pueden clasificarse también según el tipo de citocinas secretado y el efecto final de las mismas sobre el sistema inmunitario: Las células T  $CD4^+$  poseen la capacidad de diferenciarse en células efectoras, cada una con distintas propiedades funcionales según el patrón de citocinas que secreten <sup>8</sup>. Las células T *helper* tipo 1 ( $T_H1$ ) secretan factor activador de macrófagos, interferón  $\gamma$  y linfoxina, mientras que las T *helper* tipo 2 ( $T_H2$ ) producen citocinas como IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 <sup>9</sup>. Las células  $T_H1$  estimulan intensamente las respuestas inmunes mediadas por células, especialmente contra patógenos intracelulares, favoreciendo el reclutamiento y la activación de fagocitos profesionales, como neutrófilos y monocitos-macrófagos. Las células  $T_H2$ , a través de la producción de IL-4 e IL-13, son potentes activadores de la producción de anticuerpos por las células B, especialmente de Ig E <sup>10</sup>. La IL-5 secretada por las células  $T_H2$  es crítica para la diferenciación y maduración de los eosinófilos <sup>11</sup>. De este modo, los linfocitos  $T_H2$  participan específicamente en respuestas inmunes que requieren un fuerte componente humoral y en respuestas frente a parásitos.

Recientemente se ha planteado una nueva clasificación funcional para los linfocitos T  $CD8^+$  <sup>12</sup>. Los linfocitos T  $CD8^+$  citotóxicos-1 ( $T_C1$ ) son activados en las infecciones víricas y generalmente producen interferón- $\gamma$  y linfoxina. Pero cuando se activan en presencia de IL-4, los linfocitos T  $CD8^+$  citotóxicos-2 ( $T_C2$ ) pueden ser inducidos a producir y secretar IL-4 e IL-5, y pueden contener su función citotóxica, y estimular también el reclutamiento de eosinófilos y proporcionar apoyo a los linfocitos B para la

producción de Ig E <sup>13-15</sup>, actuando además como potenciadores de la inflamación tisular en las enfermedades alérgicas.

#### 4. REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD. ALERGIA DIGESTIVA.

##### 4.1. MUCOSA DIGESTIVA Y GALT. TOLERANCIA INMUNOLÓGICA.

El sistema inmunitario de la mucosa gastrointestinal debe permitir la coexistencia con una amplia combinación de antígenos y sustancias lumenales y mantener la capacidad de eliminar con rapidez microorganismos patógenos y células epiteliales transformadas, a la vez que ha de permitir el paso de nutrientes. Por este motivo, posee especializaciones estructurales y funcionales que permiten el desarrollo de estas funciones.

La mayoría de las células secretoras de inmunoglobulinas del cuerpo humano se localizan en los *tejidos linfoides asociados al tracto gastrointestinal* (GALT). La respuesta inmunitaria mucosa posee capacidad para secretar anticuerpos que forman complejos con antígenos de la luz gastrointestinal sin activar el sistema de complemento, y de inducir linfocitos T tolerogénicos que mantienen respuestas locales controladas frente a bacterias comensales o componentes de la dieta, sin que se produzcan reacciones sistémicas <sup>16,17</sup>. El tejido linfoide intestinal está formado por linfocitos residentes en las placas de Peyer, en la *lamina propia* y en el compartimento intraepitelial. A diferencia del tejido linfoide de otras localizaciones periféricas, en el tubo digestivo también existen eosinófilos residentes formando parte del mismo <sup>18</sup>. Las poblaciones linfocitarias de la mucosa digestiva están anatómicamente, fenotípicamente y funcionalmente compartimentalizadas en sitios inductivos (placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos) y sitios efectores (*lamina propia* y compartimento intraepitelial) <sup>19</sup>. Además, los linfocitos mucosos estimulados en una región pueden circular hacia otras superficies mucosas y constituir el llamado *tejido linfoide asociado a mucosas* (MALT) en el cual la inmunización en cualquier nivel (nasal, oral, rectal, inhalatorio) puede inducir respuestas protectoras en todas las superficies mucosas.

#### 4.2. DIFERENCIAS EN LA INMUNIDAD A LO LARGO DEL TRACTO DIGESTIVO.

Las placas de Peyer se localizan en todo el intestino delgado, siendo más abundantes y desarrolladas en el ileon distal. La mucosa oral y el colon (sobre todo el apéndice) y recto son lugar para la captación controlada de antígenos y la activación de linfocitos B y T no estimulados. Sin embargo, el esófago posee marcadas diferencias en cuanto a los aspectos inmunológicos con respecto al resto de tramos del aparato digestivo.

El epitelio esofágico posee una estructura histológica diferente a la de los restantes órganos del tubo digestivo, y presenta más similitud con el epitelio cutáneo. Sus células son aplanadas y se disponen en distintos estratos, carecen de funciones secretoras o absorptivas y ofrecen el aspecto de mero revestimiento de un conducto de paso. Aunque existen glándulas acinares en la submucosa, secretoras de moco lubricante y bicarbonato, éstas son escasísimas en comparación con las existentes en otros tramos digestivos. Con la estructura descrita, parece lógico admitir que el esófago carezca de una función defensiva específica, máxime si consideramos que su contenido en células residentes con capacidad inmunológica o en agregados linfoides es prácticamente despreciable en comparación con tramos más distales del tubo digestivo. Por estos motivos, la función clásicamente atribuida al esófago no es otra que la de servir de mero conducto de comunicación entre la faringe y el estómago, y no ha sido considerada la posibilidad de que el esófago humano pueda participar de un modo relevante en el desarrollo de respuestas de tipo inmunoalérgico, implicadas en el reconocimiento de antígenos exógenos, y de responder de manera específica a través de mecanismos de defensa que implican a distintas células efectoras y determinan la inflamación del órgano.

#### 4.3. ALERGIA GASTROINTESTINAL. FORMAS CLÍNICAS Y MECANISMOS.

La pérdida de la capacidad de tolerancia inmunológica de la mucosa digestiva frente a distintos antígenos presentes en la luz intestinal supone el desencadenamiento de respuestas inmunoalérgicas que conducen a reacciones inflamatorias en la pared del tubo digestivo.



En los últimos años ha aumentado notablemente nuestro conocimiento sobre la hipersensibilidad a alimentos, paralelamente al aumento de la incidencia de alergias alimentarias<sup>20</sup>, probablemente relacionado con el desarrollo socio-económico en los países industrializados. Las alergias alimentarias en niños y adultos pueden implicar distintos segmentos del tracto gastrointestinal, y pueden presentarse bajo distintas entidades clínicas, como el síndrome de alergia oral, la enterocolitis inducida por proteínas, el estreñimiento alérgico y otras formas de dismotilidad (que pueden incluir algunos casos de síndrome del intestino irritable) y enfermedades gastrointestinales relacionadas con eosinófilos<sup>21,22</sup>.

Atendiendo a sus mecanismos fisiopatológicos, las alergias alimentarias pueden clasificarse en tres grandes grupos, dependiendo de que la reacción alérgica sea totalmente mediada, parcialmente mediada o independiente de la participación de Inmunoglobulina E (Ig E)<sup>21,23</sup>.

Las enfermedades alérgicas gastrointestinales mediadas por eosinófilos constituyen un pequeño grupo de entidades emergentes, que en los últimos tiempos son objeto de interés creciente por parte de la comunidad científica. A pesar de que los mecanismos fisiopatológicos para las mismas no han sido en absoluto dilucidados, se dispone cada vez de mayores pruebas clínicas y experimentales que han llevado a diferentes autores a proponer mecanismos mixtos mediados y no mediados por IgE en la génesis de los mismos<sup>20,23</sup>.

## 5. EOSINÓFILOS GASTROINTESTINALES.

Los eosinófilos son granulocitos derivados de la médula ósea, con funciones pro-inflamatorias que están implicados en la patogénesis de múltiples procesos, especialmente en la protección frente a parásitos<sup>24-27</sup> y de tipo alérgico<sup>28,29</sup>.

Los eosinófilos son células funcionalmente complejas, cuya fisiología aún no es completamente conocida, pero que pueden actuar a través de diferentes vías y mecanismos. La función efectora de los eosinófilos es la más conocida. En sus gránulos citoplasmáticos contienen distintas proteínas tóxicas preformadas (Proteína Mayor Básica (MBP), Proteína Cationica Eosinófila (ECP), Peroxidasa Eosinófila (EPO) y Neurotoxina Derivada del Eosinófilo (EDN)) capaces de inducir daño tisular<sup>30</sup>. También liberan mediadores lipídicos



(Factor Activador de Plaquetas (PAF) y Leucotrieno C4) que inducen activación del endotelio vascular y contribuyen a la disfunción celular <sup>31</sup>.

Los eosinófilos pueden por sí mismos estimular a los linfocitos T e iniciar respuestas inmunes antígeno-específicas *in vivo*, actuando como células presentadoras de antígenos. En este sentido, los eosinófilos pueden ser inducidos a expresar moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II <sup>32</sup>. También expresan moléculas co-estimuladoras importantes en la presentación de antígenos a las células T, como CD40, CD28, CD80 (B7.1) y CD86 (B7.2) <sup>33,34</sup>. Por último, los eosinófilos tienen capacidad para secretar citocinas estimulantes de los linfocitos (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12) <sup>32-36</sup>.

Además, los eosinófilos pueden tener efectos pro-inflamatorios mediante la liberación de una serie de citocinas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-12, IL-16), quimiocinas (RANTES y eotaxina) y mediadores lipídicos <sup>31</sup>, y efectos profibrogénicos mediados por TGF  $\alpha/\beta$ .

Aunque generalmente son consideradas células circulantes de la sangre, los leucocitos eosinófilos participan funcionalmente en diversas enfermedades. Son reclutados hacia los tejidos periféricos desde la sangre circulante en respuesta a determinados estímulos, y alcanzan de este modo los lugares de la inflamación, donde pueden modular diferentes respuestas a través de diversos mecanismos. Pese a que la mayoría de las investigaciones sobre la circulación y función de estas células se han enfocado a conocer sus funciones en el pulmón y en la sangre <sup>37,38</sup>, recientemente también se ha empezado a dilucidar la regulación y la función de los eosinófilos en el tracto gastrointestinal.

Al igual que ocurre en otros órganos, el tracto digestivo posee leucocitos eosinófilos en el espesor de sus tejidos. En condiciones normales, la mayoría de los mismos residen en la *lamina propria* del estómago y del intestino <sup>39</sup>. La llegada de los eosinófilos a estos tejidos ocurre durante el desarrollo embrionario, y su número es independiente de la flora intestinal. De hecho, el número de eosinófilos residentes en el tracto digestivo es significativamente mayor al que existe en otros tejidos.

Sin embargo, el esófago humano es deficiente en eosinófilos en condiciones normales, y su presencia generalmente traduce patología <sup>40-42</sup>. En este sentido, el esófago

humano también es un órgano inmunológicamente único y diferente al resto de las secciones del tubo digestivo, al carecer de eosinófilos residentes en su estructura.

## 6. EOSINÓFILOS Y PATOLOGÍA DIGESTIVA.

En muchas enfermedades gastrointestinales se puede detectar un aumento del número de eosinófilos en muestras de tejido. En algunas de ellas, como la gastroenteritis eosinofílica, los eosinófilos actúan como la principal célula efectora<sup>43</sup>. En otras, como en la enfermedad inflamatoria intestinal y en el reflujo gastroesofágico, su presencia es más enigmática, en tanto que los eosinófilos pueden, desde no aparecer, hasta secretar activamente el contenido de sus gránulos<sup>28,29,31,39,44</sup>. Por este motivo, se ha propuesto que en estos casos los eosinófilos pudieran tener una función reguladora.

**Tabla 1.** Clasificación de las enfermedades gastrointestinales asociadas a eosinófilos (Modificado de Rothenberg, ME, 2004)<sup>18</sup>

### **Esofagitis asociada a eosinófilos:**

Esofagitis eosinofílica primaria

Secundarias:

Enfermedades eosinofílicas: Síndrome hipereosinofílico

Enfermedades no eosinofílicas: Iatrogénica (fármacos), ERGE, Infestaciones, leiomiomatosis esofágica, enfermedades del tejido conectivo (esclerodermia).

### **Gastroenteritis asociadas a eosinófilos:**

Gastroenteritis eosinofílica primaria (formas mucosa, muscular y serosa)

Secundarias:

Enfermedades eosinofílicas: Síndrome hipereosinofílico.

Enfermedades no eosinofílicas: Enfermedad celiaca, Enfermedad del tejido conectivo (esclerodermia), Iatrogénica (fármacos, radiaciones), Infestaciones, Enfermedad inflamatoria intestinal, Vasculitis (Síndrome de Churg-Strauss)

### **Colitis asociadas a eosinófilos:**

Colitis eosinofílica primaria (colitis alérgica de la infancia)

Secundarias:

Enfermedades eosinofílicas: Gastroenteritis eosinofílica, síndrome hipereosinofílico.

Enfermedades no eosinofílicas: Enfermedad celiaca, Enfermedades del tejido conectivo (esclerodermia), Iatrogénica, Infestaciones, Enfermedad inflamatoria intestinal, Vasculitis (síndrome de Churg-Strauss).

La presencia de eosinófilos en el esófago se ha relacionado con diferentes procesos patológicos. Clásicamente han sido considerados un marcador histológico de enfermedad por reflujo gastroesofágico<sup>45</sup>, hasta el punto incluso de establecer como sinónimos la presencia de estas células y el diagnóstico de la enfermedad<sup>45,46</sup>. Sin embargo, también ha sido descrita su presencia en otras entidades, como tras causticación del órgano, parasitosis, reacciones farmacológicas o neoplasias hematológicas.

Una rara entidad clínica, descrita en 1937 <sup>47</sup> y denominada *gastroenteritis eosinofílica*, puede presentarse con marcada infiltración de la mucosa esofágica por leucocitos eosinófilos. Aún es un proceso poco conocido, pero se caracteriza por una intensa eosinofilia tisular que puede afectar a las distintas capas de la pared intestinal <sup>48</sup>, de modo que han sido descritas tres categorías o formas clínicas para la misma en función de la extensión del infiltrado eosinofílico <sup>49</sup>: forma mucosa, forma muscular y forma subserosa. Aparece predominantemente en la infancia. En la gastroenteritis eosinofílica la mucosa gástrica y duodenal están afectadas de manera prácticamente constante y clínicamente cursa con dolor abdominal tipo cólico, diarrea y pérdida de peso, enteropatía con pérdida de proteínas, anemia ferropénica y retraso del crecimiento. Hasta el 50% de los pacientes afectados de gastroenteritis eosinofílica presentan infiltración eosinófila del esófago. Etiológicamente parece relacionada con trastornos inmunoalérgicos, y una alta proporción de pacientes presentan antecedentes personales o familiares de atopia, alergias alimentarias o eosinofilia sanguínea <sup>50</sup>.

## 7. ESOFAGITIS EOSINOFÍLICA.

### 7.1. DEFINICIÓN.

La EE es un trastorno inflamatorio crónico de origen desconocido, que cursa con disfagia recurrente y episodios de impactación alimentaria esofágica, con gran variabilidad en cuanto a la intensidad, frecuencia y duración de los ataques. Dicha disfagia parece ser consecuencia de una respuesta inflamatoria y no de una obstrucción anatómica del esófago al paso del alimento. Otros síntomas más infrecuentes son dolor torácico, vómitos o pirosis, que sin embargo, en niños suelen ser la presentación más habitual <sup>51</sup>.

Se trata de una entidad clínico-patológica descrita recientemente que está caracterizada por una densa inflamación constituida por granulocitos eosinófilos limitada exclusivamente a la mucosa esofágica <sup>52</sup>. Su diagnóstico está basado en la demostración de signos histológicos característicos y en la exclusión de otros procesos patológicos descritos que condicionan eosinofilia esofágica. \*

También denominada “esofagitis alérgica” o “esófago de pequeño calibre”, su primera descripción en la literatura se debe a Dobbins <sup>53</sup> quien identificó a un varón de 51 años con disfagia, dolor torácico, antecedentes de asma bronquial y alergias ambientales.



La mucosa esofágica presentaba una densa infiltración por eosinófilos. Por este motivo, la esofagitis eosinofílica inicialmente fue considerada una entidad asociada con la gastroenteritis eosinofílica, o incluida dentro del espectro clínico de la misma.

## 7.2. NOTAS HISTÓRICAS.

La EE es una enfermedad de reciente conocimiento. Al final de la década de los 70 comenzaron a describirse casos de pacientes pediátricos con historia de disfagia habitual a sólidos y líquidos, frecuentes impactaciones de alimento en el esófago, pérdida de peso y, con frecuencia, alérgicos a diferentes alimentos, cuya sintomatología no mejoraba con los tratamientos habituales. Estos pacientes reaparecían años después en las consultas de adultos con idéntica sintomatología. En un principio se consideró que estos pacientes padecían una forma extensa de gastroenteritis eosinofílica con afectación esofágica añadida, no diagnosticada en su momento <sup>53</sup>. Sin embargo, hasta en 4 de los casos inicialmente descritos no se demostró eosinofilia extra-esofágica <sup>46,54,55</sup>. Así las cosas, en 1981 se propone la diferencia efectiva entre las dos enfermedades <sup>56</sup> y se utiliza por vez primera el término de Esofagitis Alérgica. Attwood fue el primer autor que, en 1993 <sup>52</sup>, consideró a la EE un síndrome clínico-patológico propio, independiente de la gastroenteritis eosinofílica, a partir de la descripción de 12 pacientes jóvenes que presentaban intensa infiltración eosinofílica exclusivamente esofágica, en número significativamente mayor al encontrado en los casos de reflujo gastroesofágico, y características clínicas distintivas. Desde entonces y hasta la actualidad, la EE es reconocida como una entidad independiente.

## 7.3. ENFERMEDAD EMERGENTE.

Desde sus descripciones iniciales, el número de pacientes diagnosticados de esofagitis eosinofílica y comunicados en la literatura ha ido en progresivo aumento. Debido a la mayor descripción de casos en pacientes pediátricos, la EE ha sido considerada tradicionalmente un trastorno propio de la infancia, aunque se ha descrito en pacientes de todas las edades. En los últimos años son cada vez más frecuentes los casos diagnosticados en pacientes adultos, y el número creciente de publicaciones en pacientes de todas las edades y a lo largo de todos los países industrializados de los distintos continentes <sup>57</sup> ha supuesto que muchos autores hayan advertido que se trata de una enfermedad emergente <sup>40,58</sup>. Tanto en su forma infantil como en adultos, la EE afecta mayoritariamente a

individuos del sexo masculino. En la forma adulta, se describe con mayor frecuencia en sujetos entre la 3ª y 5ª décadas de la vida.

#### 7.4. ASPECTOS CLÍNICOS DE LA EE.

La historia natural de la EE no ha sido aún definida, pero la larga duración de los síntomas antes del diagnóstico, con periodos intercalados de ausencia de síntomas, sugiere que la EE en adultos es una entidad crónica a la vez que largamente indolente. Las estenosis esofágicas desarrolladas insidiosamente son frecuentes y pueden causar dificultades deglutorias significativas. La impactación de *bolus* alimentarios en el esófago es la manifestación clínica que más frecuentemente conduce al diagnóstico en pacientes adultos<sup>59</sup>. Está bien documentada en varones jóvenes con un esófago de pequeño calibre o incluso de calibre normal, y muchas suponen impactaciones sostenidas que requieren resolución endoscópica inmediata. Las impactaciones transitorias o autolimitadas también son frecuentes y los pacientes se suelen adaptar a esos síntomas.

Los síntomas clínicos (disfagia crónica, ataques agudos de disfagia de duración variable con fenómenos "On-Off", impactación de alimento en esófago) implican necesariamente contracción del músculo liso esofágico, con reminiscencias a la contracción del músculo liso bronquial que acontece en el asma<sup>60</sup>. En este sentido, existen estudios en ratones que sugieren una relación estrecha entre la inflamación eosinofílica de la vía aérea y la del esófago<sup>61</sup>.

Existen evidencias que que la infiltración del aparato digestivo por eosinófilos se asocia con desórdenes como pérdida de peso y dismotilidad gástrica<sup>62</sup>; Éstas proceden tanto de modelos animales<sup>63</sup> (ratones estimulados con antígenos orales desarrollan marcada infiltración de todos los tramos del tracto digestivo por eosinófilos, disminución del vaciamiento gástrico, gastromegalia y caquexia, condicionadas por necrosis de los axones de los nervios entéricos), como de observaciones en humanos<sup>64,65</sup>.

Los hallazgos endoscópicos en la EE también traducen una alteración de la motilidad del órgano que puede ponerse de manifiesto mediante estudios manométricos, y que, en última instancia, sería la responsable de las manifestaciones clínicas en estos pacientes. Sin embargo, son muy pocos los casos comunicados de esta enfermedad con estudio de la función motora del esófago, y, entre estos, no existe uniformidad en los

resultados obtenidos, habiéndose definido distintos trastornos motores en la EE, los más frecuentes de tipo inespecífico.

Entre los hallazgos endoscópicos en esta entidad han sido descritas estenosis esofágicas concéntricas, focales o segmentarias, sin lesiones mucosas asociadas, que son causa de impactación de alimento y anillos de contracción simultánea a lo largo de la longitud del órgano, que asemejan ondulaciones mucosas <sup>40</sup>. Otros hallazgos más sutiles son surcos lineales longitudinales y exudados blanquecinos puntiformes o papulares que traducen depósitos mucosos o microabscesos constituidos por eosinófilos <sup>66</sup>. También se han descrito desgarros esofágicos característicos tras las dilataciones endoscópicas. Las estenosis han sido descritas raramente en niños. Otros pacientes presentan exploración endoscópica normal. Los estudios mediante radiología baritada ocasionalmente pueden demostrar la presencia de estenosis o indentaciones a modo de anillos <sup>67</sup>, aunque con frecuencia resultan normales <sup>68</sup>.

## 8. BASES FISIOPATOLÓGICAS DE LA E.E.

Se conoce muy poco sobre la fisiopatología de la enfermedad, pero todos los autores vienen a coincidir en que se trata de un proceso inflamatorio de etiología inmunoalérgica, determinado por una posible reacción de hipersensibilidad frente a ciertos componentes de la dieta o a aeroalergenos. Esta teoría se sustenta en el hecho de que en muchos pacientes existe historia personal y familiar de asma, rinitis alérgica, dermatitis atópica, alergias a fármacos y a alimentos, eosinofilia sanguínea o niveles séricos de IgE elevados <sup>69,70</sup>. También ha sido descrita positividad en los test alérgicos cutáneos y en test de radioabsorvencia alérgica (RAST).

Igualmente, se ha comunicado la remisión de las lesiones histológicas en sujetos sometidos a dietas elementales carentes de capacidad antigénica <sup>71</sup>.

### 8.1. INFILTRADO INFLAMATORIO EN LA MUCOSA.

La ausencia en muchos casos de hallazgos endoscópicos característicos o reseñables en la mucosa del órgano hace que el único criterio diagnóstico para la EE sea la histología. La existencia de un denso infiltrado de la mucosa esofágica, constituido por más de 20 leucocitos eosinófilos por campo de gran aumento (HPF) (400 x) se ha



establecido como el criterio histopatológico diferencial <sup>40,72,73</sup>. Sin embargo, en un escaso número de individuos controles la presencia de aislados eosinófilos permeando el epitelio esofágico en número no mayor de 2 ó 3 por HPF puede formar parte de la histología normal del tercio distal del órgano <sup>74</sup>. En la enfermedad por reflujo gastroesofágico, la causa más frecuente de eosinofilia esofágica, el número de eosinófilos también es muy reducido, y en ningún caso la densidad celular supera los 7 a 10 eosinófilos por HPF.

A pesar de que el papel fisiopatológico de los eosinófilos en el asma es todavía debatido, parece evidente que los eosinófilos están implicados en la remodelación de la pared bronquial por la liberación de mediadores tóxicos desde sus gránulos citoplasmáticos <sup>75</sup>. En trabajos previos en EE se ha sugerido que la inflamación por eosinófilos del esófago no está asociada con los defectos epiteliales que se observan en el análisis endoscópico e histológico <sup>52,76</sup>. Pero en opinión de otros autores <sup>77,78</sup>, la inflamación por eosinófilos produce daño por sí misma en el epitelio de pacientes con EE. No existe, sin embargo, correlación entre la gravedad del daño inflamatorio endoscópico y el número de eosinófilos infiltrantes. Esto puede sugerir que la presencia de eosinófilos por sí misma no es el único factor determinante del daño tisular.

## **8.2. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS EN LA EE.**

Según lo expuesto hasta ahora, la esofagitis eosinofílica presenta muchos aspectos similares a otras enfermedades alérgicas, y parece evidente que los leucocitos eosinófilos tienen una importante función en el desarrollo de la disfagia, máxime cuando estos pacientes responden satisfactoriamente al tratamiento con terapias antieosinofílicas. La siguiente cuestión que se plantea es el conocimiento de los mecanismos celulares, humorales o moleculares que subyacen al reclutamiento de leucocitos eosinófilos desde la sangre del paciente hasta los tejidos del esófago y la consiguiente infiltración del mismo.

Pocos trabajos han tratado de dilucidar los mecanismos inmunopatológicos íntimos de las enfermedades gastrointestinales asociadas a eosinófilos en general, y de la EE en particular. Sin embargo, disponemos de algunas informaciones que nos permiten abordar su estudio, procedentes de distintas estrategias de investigación:

a) Algunos autores han intentado definir la naturaleza del infiltrado inflamatorio mediante tinciones inmunohistoquímicas en muestras de mucosa esofágica.

b) Otros autores han tratado de aclarar la fisiopatología de la enfermedad mediante estudios sobre la capacidad de los linfocitos obtenidos de casos de infiltración eosinófila esofágica y cultivados bajo determinadas condiciones, para la producción de citocinas de perfil inflamatorio específico.

c) Recientemente se ha estudiado la expresión de citocinas en muestras de mucosa normal e inflamada de niños con EE <sup>79,80</sup>.

d) Por último, se han desarrollado modelos animales experimentales de infiltración eosinófila de distintos segmentos del tubo digestivo, tratando de reproducir las condiciones que iniciarían, perpetuarían o regularían la infiltración por leucocitos eosinófilos.

### 8.2.1. Células inmunocompetentes en la mucosa esofágica.

Las técnicas de inmunohistoquímica realizadas sobre muestras de mucosa esofágica y de otras secciones del tracto digestivo han permitido conocer varios datos sobre la naturaleza de la inflamación y sobre la capacidad inmunológica del esófago. De este modo, hoy conocemos que el epitelio esofágico humano normal contiene **linfocitos T**, pero carece normalmente de otras células inflamatorias, a diferencia de lo que ocurre en partes más distales del tracto gastrointestinal. Hace una década que se estableció que en presencia de RGE se incrementaba el número de linfocitos T esofágicos <sup>81</sup>, y más recientemente se ha establecido que en la EE estas células podrían también incrementar su número <sup>82,83</sup>, al menos en las formas infantiles de la enfermedad. Así, se ha comunicado un incremento significativo en el número de células CD3<sup>+</sup> <sup>82</sup> y subpoblaciones CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> <sup>59,82</sup> en casos pediátricos de EE respecto a controles sanos.

**Los mastocitos** participan igualmente en las respuestas inmunoalérgicas y también podrían encontrarse incrementados en el epitelio esofágico en la EE <sup>79,84,85</sup>, aunque este hecho ha sido poco estudiado. Los mastocitos almacenan en sus gránulos potentes mediadores <sup>86,87</sup> (histamina, Leucotrieno C4, Factor Activador de Plaquetas y otros activadores de la contracción del músculo liso), así como factor quimiotáctico eosinofílico <sup>88</sup>, cuya liberación al medio extracelular en respuesta a la estimulación antigénica <sup>89</sup> se produce a través de la activación de receptores de alta afinidad para IgE (FcεRI) o mediante mecanismos no inmunológicos <sup>90</sup>. En el estudio mediante microscopía confocal en la alergia alimentaria han sido identificados mastocitos en la proximidad de las fibras nerviosas aferentes <sup>91</sup>, que podrían alterar la estabilidad del potencial de membrana o

inducir contracción del músculo liso<sup>89</sup>, contribuyendo a la dismotilidad digestiva en estos pacientes.

### 8.2.2. Estímulos químicos para el reclutamiento de eosinófilos al esófago en la EE.

El proceso de señalización para el reclutamiento de eosinófilos en las enfermedades gastrointestinales que implican a estas células no está bien caracterizado. La mayor parte de los estudios sobre reclutamiento eosinofílico tisular se han desarrollado en pulmón y han mostrado una función integral para la IL-5<sup>75,92,93</sup>, la cual es un importante factor para la proliferación, diferenciación, supervivencia y activación, no sólo de los eosinófilos, sino también de los linfocitos T cooperadores y de los mastocitos en las reacciones alérgicas crónicas.

Las **eotaxinas** son una subfamilia de quimiocinas (que comprende 3 moléculas denominadas eotaxina-1, 2 y 3) que actúan como potentes quimioatrayentes específicos para los eosinófilos a través del receptor de quimiocinas (CCR)-3, que se encuentra primariamente en estos leucocitos<sup>94</sup>. La eotaxina-1 está ubicuamente expresada en el tubo digestivo<sup>95-97</sup>, y su mRNA puede ser aislado de las células mononucleares residentes en la *lamina propria* del intestino delgado, que es la zona en la que residen la mayoría de los eosinófilos del tubo digestivo en condiciones basales. Estudios en ratones deficientes para eotaxina-1 muestran que éstos poseen menos eosinófilos en todos los segmentos del tubo digestivo, pero no modifican su presencia en médula ósea ni en sangre periférica, lo que indica que el efecto de la eotaxina-1 es tejido-específica<sup>63</sup>, y podría ser relevante en la fisiopatología de la EE en humanos<sup>79</sup>. Los niveles elevados de eotaxina-1 y de eosinófilos se asocian a distintas enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio humano, y sus niveles se correlacionan con la gravedad clínica del proceso<sup>98-100</sup>, pero pese al elevado número de eosinófilos intraepiteliales presentes en la EE, no se ha observado un aumento en la expresión de eotaxina sérica<sup>101</sup> en estos pacientes.

**RANTES** (*Regulated upon Activation, Normal T-cells Expressed and Secreted chemokine*) es otra quimiocina implicada en procesos inflamatorios, que aparece ligeramente incrementada en la EE murina respecto a epitelios controles<sup>95,97</sup>, dato que no ha podido ser corroborado en humanos<sup>79</sup>. Tanto RANTES como eotaxina son de producción exclusiva por células inflamatorias, pues no son detectables en las células



epiteliales del esófago. Este hecho sugiere que ni la eotaxina por sí misma, y seguramente tampoco RANTES, son suficientes para el reclutamiento e infiltración de eosinófilos dentro del esófago. La IL-5 pudiera ser, por tanto, el factor adicional requerido para la infiltración eosinofílica, complementando sus funciones en la generación y en la activación eosinofílica. Este hecho se ve sustentado porque un ratón transgénico que sobreexpresa IL-5 experimenta una intensa acumulación de eosinófilos en el esófago <sup>95</sup>. Pero estos resultados se ven limitados por el hecho de que están obtenidos del análisis de poblaciones celulares y de expresión de citocinas a nivel del epitelio esofágico, y nada predicen del comportamiento del infiltrado inflamatorio en las capas subyacentes, como la submucosa, precisamente la zona del órgano donde la densidad de células con capacidades inmunológicas es mayor en condiciones basales.

De todo lo expuesto se obtienen determinadas conclusiones que permiten conocer que los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo del infiltrado eosinofílico en el epitelio esofágico responden a estímulos generales de la biología de estas células. Así, la activación de la respuesta inflamatoria determina la expresión de moléculas de adhesión sobre el endotelio vascular en respuesta a IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , responsables de la adherencia y extravasación de los eosinófilos diferenciados por la acción de IL-5, que acuden al lugar de la inflamación siguiendo gradientes químicos de eotaxina y RANTES.

La estimulación *in vitro* de linfocitos T procedentes de sangre periférica de ratones con EE ha mostrado una capacidad aumentada para la producción de ciertas citocinas, en comparación con los animales controles. Además, aquellos pacientes con EE que presentaban alguna otra enfermedad alérgica mediada por IgE poseen una capacidad mayor de producción de IL-13 por sus linfocitos. Sin embargo, la capacidad de producción de IL-5 y de TNF- $\alpha$  por linfocitos procedentes de pacientes con EE no se ha visto incrementada respecto a sujetos controles <sup>42</sup>.

De esta manera, y aunque aún estamos lejos de conocer completamente los mecanismos celulares y moleculares que conducen a la infiltración eosinofílica del órgano y a las manifestaciones clínicas derivadas de esta, hoy parece claro que la EE se caracteriza por un incremento en el número de eosinófilos y de linfocitos-T en la mucosa esofágica, respecto a controles sanos. El número de estas células inflamatorias en la mucosa gástrica

y duodenal no muestra diferencias entre los pacientes con EE y los controles sanos, lo que sugiere que el proceso inflamatorio queda restringido al esófago<sup>18,42</sup>.

### **8.3. ASPECTOS OSCUROS EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LA EE.**

Los datos disponibles en la actualidad permiten asumir que las células T poseen una importante función en la regulación de los eosinófilos en la EE, al igual que ocurre en otras enfermedades<sup>102</sup>. Los modelos experimentales murinos de EE<sup>61</sup> han definido una reacción inmune de tipo celular en la fisiopatología de la EE y han identificado respuestas inmunológicas mediadas por linfocitos T de perfil secretor de citocinas tipo  $T_H2$ , con un papel central para IL-5 en la inducción de la inflamación eosinofílica<sup>42,57,79</sup>. Estos estudios sugieren que la inmunopatogénesis de la EE primaria está mediada por mecanismos comunes con el asma bronquial, en tanto que en ambos procesos se implican células y citocinas similares. Por otro lado, los pacientes con asma bronquial presentan, al igual que aquellos afectados de EE, diferentes manifestaciones alérgicas mediadas por IgE, infiltración epitelial por eosinófilos y trastornos motores espásticos. La respuesta a tratamiento esteroideo se observa en ambas entidades, y, tomando todos estos datos en conjunto, resulta evidente que ambos procesos parecen compartir mecanismos fisiopatológicos comunes.

Sin embargo, cuando se toman en conjunto todas las evidencias experimentales disponibles obtenidas de estudios realizados sobre pacientes con EE y sobre modelos animales de la enfermedad, no existe una total concordancia en los resultados comunicados. Tampoco se ha definido el papel potencial de la inmunidad humoral en el desarrollo o mantenimiento de la infiltración eosinófila del esófago, cuando es una observación común que los pacientes afectados de EE presentan con gran frecuencia niveles séricos elevados de IgE, que pudieran participar de algún modo en los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad a través de sus acciones específicas sobre mastocitos y otras células ligadoras de IgE encontradas en el epitelio esofágico de pacientes con EE.

Muy pocos estudios han sido dirigidos a identificar linfocitos B en la mucosa del esófago, aunque parece que también podrían observarse en mucho menor número que los linfocitos T<sup>103</sup>. De este modo, y aunque podamos admitir que la infiltración eosinofílica primaria del esófago pudiera responder a una respuesta de inmunidad celular tipo  $T_H2$ , no puede descartarse que, en al menos un subgrupo de pacientes, la inmunidad humoral

dependiente de linfocitos B y de IgE tenga alguna responsabilidad en la iniciación o el mantenimiento del infiltrado eosinofílico esofágico <sup>69</sup>.

Por todas estas razones, además de por la escasez de datos sobre la presencia de células con capacidades inmunológicas o pro-inflamatorias en el esófago normal y en otros procesos patológicos como la enfermedad por reflujo, en la actualidad no ha podido ser planteada una hipótesis universalmente aceptada que explique los fenómenos inmunológicos celulares o humorales que subyacen al inicio de la inflamación eosinófila del esófago, o los mecanismos de tipo molecular que participan en la perpetuación de la misma.

No podemos olvidar, por otro lado, que la mayor parte de los pacientes con EE tienen también otras enfermedades alérgicas asociadas, como asma bronquial, rinoconjuntivitis o dermatitis atópica. Aunque los marcadores periféricos no se correlacionan con la intensidad de la enfermedad, al menos 2 hechos indican que la EE no es necesariamente una enfermedad local: Primero, el número de eosinófilos incrementados en sangre de muchos pacientes, que puede responder a una estimulación de la médula ósea. En segundo lugar, la referida evidencia de inflamación en otros órganos que muestran muchos pacientes, lo que puede implicar que los eventos esofágicos forman parte de una enfermedad alérgica sistémica. Por estas razones, diversos autores han advertido que es posible que la EE no sea un proceso patológico independiente, sino sólo una expresión clínica más dentro de la constitución alérgica general de estos pacientes <sup>58,104</sup>.

## 9. OPCIONES TERAPÉUTICAS EN LA E.E.

Existen escasas evidencias acerca de cuál es el mejor tratamiento a administrar a los pacientes con EE. La escasez de casos comunicados y el hecho de que se trate de un trastorno de curso crónico hacen que en la actualidad la terapéutica a aplicar en estos pacientes sea discutible y se desconoce la necesidad de tratamiento de mantenimiento. Por otro lado, tampoco queda claro si los pacientes con eosinofilia esofágica que se encuentran asintomáticos durante los periodos intercrisis deben recibir tratamiento, y si éste influye en el curso de la enfermedad a medio o largo plazo. Seguidamente resumimos las distintas alternativas terapéuticas ensayadas en la EE:



### 9.1. TRATAMIENTO DIETÉTICO.

Por la mayor prevalencia comunicada de la EE en niños, los distintos tratamientos ensayados han sido mejor evaluados en este grupo de pacientes. Las restricciones dietéticas y las dietas elementales han mostrado su eficacia en muchos casos <sup>71,105</sup>, pero su alto coste y las dificultades para su cumplimiento hacen de éstas una opción terapéutica poco aplicable, máxime si consideramos que se trata de un trastorno crónico. Estas dificultades se acentúan aún más en el caso de los pacientes adultos.

### 9.2. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO.

Los corticoesteroides administrados por vía sistémica <sup>91,106</sup> han demostrado su eficacia en cuanto a mejorar la clínica y revertir las lesiones histológicas, pero poseen efectos secundarios que limitan su uso. Más recientemente se han ensayado los corticoides tópicos <sup>68,82,85,107,108</sup>, especialmente el **propionato de fluticasona**, que presenta una eficacia comparable a los corticoides sistémicos, careciendo de muchos de sus efectos adversos y siendo bien tolerados por los pacientes.

Otros posibles tratamientos aplicados, como los fármacos estabilizadores de la membrana de los mastocitos <sup>109,110</sup> o los inhibidores de la acción de los leucotrienos <sup>111-114</sup>, carecen de la suficiente experiencia.

### 9.3. TRATAMIENTOS ENDOSCÓPICOS.

En el caso de pacientes adultos con EE que mostraban estenosis esofágicas en la endoscopia se han realizado dilataciones neumáticas endoscópicas con eficacia variable, siendo esta tal vez la opción terapéutica más empleada en las formas del adulto y la recomendada por algunos autores <sup>115</sup>.

### 9.4. CUESTIONES NO ACLARADAS EN EL TRATAMIENTO DE LA E.E.

Las experiencias comunicadas hasta ahora en cuanto a la valoración de la eficacia de los distintos tratamientos de la EE toman como criterio de respuesta terapéutica la normalización de los cambios morfológicos observados en las muestras de mucosa esofágica, incluida la desaparición del denso infiltrado eosinofílico. Los trabajos que han evaluado la resolución de la sintomatología no han establecido criterios objetivos o cuantificables de la mejoría clínica. En este sentido, hoy por hoy carecemos de instrumentos de valoración de la respuesta terapéutica que permitan comprobar la eficacia

del tratamiento en la resolución de los distintos aspectos de tipo inmuno-morfológico, sintomático y funcional en esta enfermedad.

## **10. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y JUSTIFICACIÓN DE ESTE ESTUDIO.**

A pesar de la creciente incidencia de la EE, con cada vez más casos diagnosticados de esta rara enfermedad, consideramos que muchos de sus aspectos inmunopatológicos, diagnósticos, funcionales y terapéuticos están todavía por esclarecer.

En nuestra opinión el esófago humano es un órgano inmunológicamente activo, capaz de participar en el desarrollo de respuestas inflamatorias locales ante la exposición a antígenos. En este sentido, su epitelio deberá poseer los elementos celulares y moleculares necesarios para el desarrollo de dichas respuestas, demostrables mediante técnicas histológicas y de biología molecular.

Como ocurre en otros procesos inflamatorios, la EE puede ocasionar una alteración en la capacidad funcional del esófago que se manifestaría clínicamente como disfagia. Sin embargo, las bases fisiopatológicas que conducen a este síntoma no han sido claramente establecidas. Nuestra hipótesis es que los síntomas esofágicos deben responder a trastornos de la función motora del músculo de la pared esofágica determinados por la propia infiltración eosinofílica del órgano, que podrían objetivarse mediante estudios manométricos.

Existen evidencias de que la exposición al estímulo antigénico en la EE se produce a través del contacto del mismo con la superficie mucosa esofágica. Proponemos aquí la hipótesis de que la aplicación de un tratamiento esteroideo tópico debe normalizar las capacidades inmunológicas del epitelio esofágico, lo que se manifestará, no solo con la restauración de la histología normal del epitelio, sino también, con la mejoría de la capacidad funcional del esófago.

## 1. OBJETIVOS PRINCIPALES

- A) Conocer las características físicas, fisiológicas y psicológicas de los sujetos, así como la metodología utilizada en la prueba de sustituciones e identificar y describir los efectos de la prueba.
- B) Establecer los mecanismos fisiológicos que intervienen en la prueba.

## 2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- A) Definir los hallazgos fisiológicos y su relación con el tiempo de respuesta por clasificación y estimación de la carga de trabajo.
- B) Definir las alteraciones fisiológicas producidas por la prueba y su relación con los hallazgos fisiológicos.
- C) Valorar la respuesta al tratamiento experimental y su relación con los hallazgos fisiológicos.

# OBJETIVOS



## 1. OBJETIVOS PRINCIPALES.

- A) Conocer las características clínicas, endoscópicas y funcionales de la EE en pacientes adultos, así como su epidemiología en nuestro medio. Realizar un estudio descriptivo de sensibilizaciones a inhalantes y alimentos en los pacientes con EE.
- B) Establecer los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la EE

## 2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.

- A) Definir los hallazgos endoscópicos y su correlación con las lesiones histológicas, para proponer una clasificación y estadificación de la esofagitis eosinofílica.
- B) Definir las alteraciones motoras presentes en la esofagitis eosinofílica y proponer una hipótesis fisiopatológica para las alteraciones funcionales en esta enfermedad.
- C) Valorar la respuesta al tratamiento esteroideo tópico de la esofagitis eosinofílica y definirla en función de parámetros objetivos de tipo morfológico, clínico y funcional.

## PACIENTES

Para este estudio se seleccionó a 100 pacientes con diagnóstico de síndrome de Asperger (SA) en el Hospital General de México, D.F., en el año 2000. Los criterios de inclusión fueron: edad entre 10 y 18 años, diagnóstico de SA confirmado por un especialista en psiquiatría o psicología, y haber sido evaluado en el Hospital General de México, D.F., en el año 2000.

En primer lugar, se realizó una revisión de la literatura sobre el SA, con el fin de establecer los criterios de inclusión y exclusión de los pacientes. Se seleccionó a los pacientes que cumplían con los criterios de inclusión y que no cumplían con los criterios de exclusión. Los criterios de inclusión fueron: edad entre 10 y 18 años, diagnóstico de SA confirmado por un especialista en psiquiatría o psicología, y haber sido evaluado en el Hospital General de México, D.F., en el año 2000. Los criterios de exclusión fueron: diagnóstico de otro trastorno mental, diagnóstico de SA no confirmado por un especialista en psiquiatría o psicología, y no haber sido evaluado en el Hospital General de México, D.F., en el año 2000.

## PACIENTES Y MÉTODOS

El diagnóstico de síndrome de Asperger se realizó mediante una evaluación clínica y psicológica.

La evaluación clínica se realizó mediante una entrevista con el paciente y sus padres, y una observación directa del paciente. La evaluación psicológica se realizó mediante una batería de pruebas psicológicas que incluyó: una prueba de inteligencia (Wechsler Intelligence Scale - WISC-III), una prueba de lenguaje (Wechsler Language Scale - WLS-III), una prueba de habilidades sociales (Social Skills Training - SST), una prueba de habilidades de comunicación (Communication and Symbolic Abilities Scales - CSAS), una prueba de habilidades de resolución de problemas (Problem Solving Skills - PSS), una prueba de habilidades de organización (Organization Skills - OS), una prueba de habilidades de planificación (Planning Skills - PS), una prueba de habilidades de memoria (Memory Skills - MS), una prueba de habilidades de atención (Attention Skills - AS), una prueba de habilidades de concentración (Concentration Skills - CS), una prueba de habilidades de control de impulsos (Impulse Control Skills - ICS), una prueba de habilidades de regulación emocional (Emotional Regulation Skills - ERS), una prueba de habilidades de manejo de la ansiedad (Anxiety Management Skills - AMS), una prueba de habilidades de manejo de la ira (Anger Management Skills - AMS), una prueba de habilidades de manejo de la tristeza (Sadness Management Skills - SMS), una prueba de habilidades de manejo de la felicidad (Happiness Management Skills - HMS), una prueba de habilidades de manejo de la soledad (Loneliness Management Skills - LMS), una prueba de habilidades de manejo de la frustración (Frustration Management Skills - FMS), una prueba de habilidades de manejo de la desesperanza (Despair Management Skills - DMS), una prueba de habilidades de manejo de la desesperación (Desperation Management Skills - DMS), una prueba de habilidades de manejo de la desesperanza y desesperación (Despair and Desperation Management Skills - DMS), una prueba de habilidades de manejo de la desesperanza y desesperación (Despair and Desperation Management Skills - DMS).

Los datos obtenidos se analizaron mediante el uso de estadísticas descriptivas y de inferencia.

## 1. PACIENTES.

Entre mayo de 2002 y octubre de 2005 han sido estudiados prospectivamente en el Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario "La Paz" pacientes adultos con sospecha de EE, por la presencia de clínica de disfagia o impactación alimentaria esofágica, que acudieron por este motivo al Servicio de Urgencias y precisaron exploración endoscópica, o que fueron remitidos a la Unidad de Endoscopia Digestiva o a las consultas del Servicio para estudio de sus síntomas.

En todos los casos se realizó historia clínica con antecedentes personales y familiares de síntomas digestivos y de manifestaciones atópicas, anamnesis orientada de sus síntomas esofágicos y exploración física. Se realizó endoscopia digestiva alta para la resolución de las causas mecánicas de la disfagia cuando existieron o para el estudio endoscópico del tracto digestivo superior, y se tomaron biopsias endoscópicas a distintos niveles del tracto digestivo superior.

El diagnóstico de esofagitis eosinofílica se establece por criterios clínicos e histológicos, que consisten en:

1. Demostración de la existencia de un denso infiltrado por leucocitos eosinófilos en muestras de biopsia endoscópica de la mucosa de tercios superior e inferior del órgano.
2. Ausencia de infiltración eosinofílica en las muestras obtenidas de mucosa gástrica y duodenal.
3. Exclusión del reflujo gastroesofágico como causa de eosinofilia esofágica.
4. Exclusión mediante datos de la historia clínica de causticaciones, parasitosis u otras causas que condicionasen eosinofilia esofágica.

Aunque la gran mayoría de los pacientes presentaban antecedentes alérgicos, ni este criterio ni la presencia de hipereosinofilia sanguínea fueron considerados para el diagnóstico de EE.



Previo a la realización de las distintas exploraciones, se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes o de sus familiares. Así mismo, todos aceptaron por escrito la utilización del material biológico o de los documentos gráficos obtenidos durante las exploraciones para fines investigadores o docentes. Toda la información obtenida, así como el curso de la atención clínica a los pacientes, fue recopilada en la historia clínica, y de esta forma fue garantizada la confidencialidad de los mismos. El estudio se llevó a cabo siguiendo las directrices de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM).

## 2. EXPLORACIÓN ENDOSCÓPICA.

Las endoscopias fueron realizadas bajo anestesia tópica faríngea con un videogastroscoPIO flexible (Olympus GIF *tipo* V<sub>2</sub>), con procesador de imagen (Olympus CV-100), fuente de luz fría Olympus RL 2 y monitor de color (Sony Trinitron Color-PVM). En la mayor parte de las exploraciones realizadas se obtuvieron imágenes digitalizadas mediante el programa Endobase®, versión III (Olympus, Germany) que fueron almacenadas informáticamente mediante el mismo programa para su posterior recuperación y análisis.

Durante las exploraciones endoscópicas se realizó toma de biopsias endoscópicas mediante forceps bivalva, marca Olympus, (EndoJaw<sup>TM</sup> FB-240K), de apertura frontal. En todos los pacientes se realizó la toma de biopsias a distintos niveles del tracto digestivo superior, en un número mínimo de 4 especímenes por cada localización. Nuestro protocolo de estudio incluía la toma de biopsias en tercios superior e inferior del esófago (considerando el primero como el tramo distal a la boca de Killian y proximal a la impronta aórtica, y el segundo como los 5 cm de mucosa proximales a la unión mucosa esofagogástrica), antro gástrico y/o segunda porción duodenal. Todas las muestras fueron fijadas en una solución de formaldehído al 4%, inmediatamente tras su obtención, y procesadas en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario "La Paz".

## 3. PROCESAMIENTO DE LAS BIOPSIAS Y ANÁLISIS HISTOLÓGICO.

Las muestras de mucosa digestiva fueron incluidas en parafina, y se obtuvieron cortes seriados de 5 micrometros de grosor, que fueron montados sobre portaobjetos y

teñidos con hematoxilina y eosina (H-E) para su estudio microscópico. Los bloques de tejido incluidos en parafina se conservaron para su posterior procesamiento mediante técnicas de inmunohistoquímica.

Se estableció el diagnóstico histológico de esofagitis eosinofílica según los siguientes criterios:

a) Biopsias de mucosa esofágica tomada en los tercios superior e inferior del órgano, incluidas en parafina y teñidas con H-E que mostraban una infiltración del epitelio esofágico por más de 24 leucocitos eosinófilos por campo de gran aumento (400 X), valorado mediante microscopía óptica con objetivo de 40 aumentos<sup>42</sup>.

b) Ausencia de infiltración eosinofílica en muestras de mucosa de estómago y/o duodeno, procesadas por la misma técnica.

#### **4. ESTUDIO PH MÉTRICO Y EXCLUSIÓN DE EOSINOFILIA POR REFLUJO GASTROESOFÁGICO.**

Tras la demostración de infiltrado eosinofílico patológico en las biopsias de mucosa esofágica se realizó pH-metría ambulatoria de 24 horas para excluir la existencia de reflujo gastroesofágico como causa del mismo.

En caso de que el paciente se encontrara bajo tratamiento médico, todos los fármacos antisecretores y procinéticos fueron suspendidos al menos 5 días antes de la realización de la exploración.

La técnica fue realizada mediante una sonda pH-métrica de doble canal con 2 electrodos de antimonio, calibrada previamente en soluciones de referencia a pH 1.01 y 7.01. La sonda fue insertada a través de un orificio nasal del paciente e introducida hasta estómago, comprobándose esta posición por la obtención de un registro de pH ácido. Posteriormente se colocó la sonda en su posición definitiva mediante la retirada de la misma, hasta la posición de los electrodos a 5 y 10 cm respectivamente sobre el esfínter esofágico inferior. La localización anatómica del mismo se determinó mediante estudio de manometría estacionaria esofágica. El registro continuo del pH esofágico se realizó mediante un procesador portable modelo MMS ORION. Los datos recogidos durante las

24 horas de estudio fueron volcados en un ordenador personal, analizados mediante el programa DbMMS v 7.2 e interpretados según la técnica de DeMeester<sup>116</sup>. El periodo de tiempo con un pH esofágico por debajo de 4.0 fue expresado en porcentaje del total de la duración del estudio (24 horas). Se consideraron patológicos la existencia de un pH menor de 4 durante más del 4% del tiempo registrado o una puntuación DeMeester mayor de 14.72.

En aquellos pacientes en los que se obtuvo un registro pH-métrico patológico, se instauró tratamiento con un fármaco inhibidor de la bomba de protones a dosis plenas (Omeprazol 20 mg/12h, Rabeprazol 20 mg/12 h, Pantoprazol 40 mg/12 h ó Esomeprazol 40 mg/12 h) durante un periodo de 2 meses, y posteriormente se repitió la toma de biopsias esofágicas según el mismo protocolo. Consideramos excluido el reflujo como causa de la eosinofilia si tras el tratamiento persistía el infiltrado eosinofílico intraepitelial en la mucosa esofágica.

## 5. ESTUDIO MANOMÉTRICO DE LA DINÁMICA ESOFÁGICA.

En los pacientes estudiados se documentaron los trastornos motores asociados a la EE mediante manometría estacionaria esofágica, realizada con perfusión por sistema hidroneumocapilar, mediante un catéter multilumen con 4 canales separados por distancias de 5 cm. Las presiones registradas en el catéter fueron determinadas a través de un polígrafo Synmed® con 4 canales de presión, conectado a su vez a un ordenador personal con el programa informático Polygram 98®.

Para la realización del registro el catéter multilumen fue introducido a través de un orificio nasal del paciente hasta que todos los sensores de presión estuvieron situados en estómago y fue registrada la presión basal gástrica. Posteriormente el catéter fue retirado progresivamente a través del esfínter esofágico inferior mientras que el paciente realizaba degluciones secas. La presión basal del esfínter y su comportamiento dinámico fueron registrados en todos los sensores de presión. Posteriormente se evaluó la capacidad peristáltica del cuerpo esofágico mediante la colocación del catéter a lo largo de la longitud del órgano, con el sensor distal colocado a 3 cm sobre el esfínter esofágico inferior. Se registró la presión basal del cuerpo esofágico y su comportamiento dinámico mediante la realización de al menos, 10 degluciones voluntarias de 5 cc de agua separadas por periodos



de, al menos, 30 segundos. Se analizaron la amplitud, duración y capacidad peristáltica de las ondas. Para la determinación de la presión basal y del comportamiento dinámico de esfínter esofágico superior se siguió un procedimiento de registro análogo al del esfínter esofágico inferior.

Para la interpretación de los resultados de la manometría estacionaria esofágica y establecer los valores de referencia se siguieron las recomendaciones del Grupo Español de Motilidad Digestiva <sup>117</sup>. Los valores de referencia que se consideraron normales para las ondas primarias en cuerpo esofágico fueron los siguientes:

<u>Amplitud</u> (mmHg):	Tercio superior:	26-74
	Tercio medio:	39-108
	Tercio inferior:	43-122
<u>Duración</u> (segundos):	Tercio superior:	2-4.4
	Tercio medio:	3.1-5
	Tercio inferior:	3.2-5.4

## 6. VALORACIÓN CLÍNICA DE LOS SÍNTOMAS ESOFÁGICOS.

Tras el diagnóstico de EE, los pacientes rellenaron un breve cuestionario para la valoración clínica de su sintomatología. En él, se atendían cuatro aspectos principales, y las respuestas debían referirse temporalmente al mes previo:

- a) Frecuencia de los síntomas esofágicos: Se valoraron el número de impactaciones y atragantamientos y el número de episodios de regurgitación semanales que presentó el paciente.
- b) Dificultad para la ingesta: El paciente puntuó de 1 (muy difícil) a 5 (sin problemas) su capacidad para ingerir alimentos de diferentes texturas: Carne de ternera, manzana, pechuga de pollo, pan, pescado y arroz.
- c) Minutos empleados en la comida o en la cena.
- d) Volumen de líquido que ingerían durante las mismas.

Así mismo, se solicitó a los pacientes una valoración numérica subjetiva global de su calidad de vida, que debía ser puntuada entre 1 (muy mala) y 5 (muy buena).

El mismo cuestionario fue realizado a los pacientes una vez finalizado el tratamiento de la enfermedad con propionato de fluticasona y comprobada la resolución de las lesiones histológicas. No se les mostraron las respuestas a la encuesta inicial, con el fin de asegurar una mayor fiabilidad en la valoración clínica de la eficacia terapéutica.

Además, en el segundo cuestionario se preguntó a los pacientes por las molestias que les suponía la administración del tratamiento y su modo de empleo, que debía ser puntuado entre 1 (ninguna molestia) y 5 (muy molesto).

## 7. TRATAMIENTO DE LA E.E.

En todos los pacientes estudiados y diagnosticados se instauró tratamiento tópico con propionato de fluticasona (Flixotide® 250, GlaxoSmithKline, ó Flusonal® 250, Almirall Prodesfarma), un corticoide sintético trifluorado, aplicado mediante un sistema de inhalador sobre la superficie de la lengua, y deglutido posteriormente, a dosis de 500 µg dos veces al día, durante un periodo de 3 meses. Se recomendó a los pacientes que no comieran ni bebieran en la hora siguiente a la aplicación, así como que hicieran enjuagues orales con agua bicarbonatada veinte minutos tras la aplicación, para evitar la candidiasis oral.

En dos pacientes, tras la toma de biopsias de mucosa esofágica y debido a la existencia de estenosis de la luz del órgano, se realizó dilatación esofágica mediante balón neumático, que produjo un alivio temporal de la clínica de disfagia, con recaída posterior, por lo que recibieron tratamiento esteroideo tópico con propionato de fluticasona como el resto de los pacientes.

Tras el tratamiento esteroideo se repitió la endoscopia digestiva alta y la toma de biopsias mucosas esofágicas en tercios superior e inferior, según el mismo protocolo. Se realizó un nuevo registro manométrico esofágico en aquellos pacientes que mostraron alteraciones significativas en el estudio basal. Igualmente, se solicitó a los pacientes que rellenaran de nuevo el cuestionario de síntomas con datos referidos al último mes.

## 8. ESTUDIO ALERGOLÓGICO.

Todos los pacientes fueron remitidos a las consultas externas del Servicio de Alergología e Inmunología Clínica del Hospital Universitario La Paz, para el estudio de sus manifestaciones alérgicas y la posible identificación del agente causal de la esofagitis eosinofílica. En todos ellos se realizó historia clínica alergológica detallada, análisis de sangre con hemograma, bioquímica básica y estudio de hemostasia y determinaciones especiales de Inmunoglobulina (Ig) E sérica total y específicas, Proteína catiónica del eosinófilo (ECP) y Triptasa.

Las pruebas cutáneas se realizaron mediante la técnica de *prick-test* en la superficie volar del antebrazo según la metodología propuesta por el subcomité de pruebas cutáneas de la European Academy of Allergy and Clinical Immunology<sup>118</sup>. Se utilizó clorhidrato de histamina (10 mg/ml) como control de positividad y solución salina normal o fisiológica como control de negatividad. Se midieron el diámetro mayor del habón y el perpendicular ortogonal 15 minutos tras la realización del *prick* cutáneo y se calculó la media aritmética de ambas medidas, que se consideró el tamaño de la prueba. Se consideró positivo un valor igual o superior a 3 mm por encima del producido por el control negativo.

Se testó una batería de inhalantes, seleccionados entre los alérgenos más prevalentes en nuestra área, una batería de alimentos y *Anisakis simplex*. Para los inhalantes se utilizaron extractos comerciales (ALK-Abelló, Madrid, España) y para los alimentos se utilizaron algunos extractos comerciales o de elaboración propia (Tabla). Esta batería de pruebas se amplió en la anamnesis alergológica detallada realizada a cada paciente y según los resultados de la batería inicial. En el caso de que algún inhalante de la batería fuese positivo o de que los pacientes refiriesen clínica respiratoria, se realizó una batería de inhalantes de uso habitual en la consulta de alergia en el diagnóstico etiológico de rinoconjuntivitis y/o asma (Tabla 3). En el caso de que el paciente refiriese clínica sugestiva de reacción alérgica o intolerancia con algún alimento se realizaron pruebas cutáneas con los alimentos de dichas familias. Si alguna de las pruebas cutáneas de la batería inicial de alimentos fuese positiva, se realizaron pruebas cutáneas con otros alimentos de esa misma familia. La Tabla 4 muestra una clasificación de alimentos y familias.



**Tabla 2.** Protocolo de estudio cutáneo alergológico en los pacientes con EE

Pruebas cutáneas del protocolo de E.E. ( <i>Prick test</i> )			
Inhalantes	Dermatophagoides pteronyssinus Alternaria tenuis Olivo ( <i>Olea europaea</i> ) Arizónica ( <i>Cupressis arizonica</i> ) <i>Lolium perenne</i> Perro Gato	Alimentos	Leche Clara de huevo Merluza Lenteja Guisante Cacahuete Arroz Maiz Patata Soja Carne de ternera Carne de pollo Anisakis

**Tabla 3.** Inhalantes de uso habitual en la consulta de alergia en el diagnóstico etiológico de rinoconjuntivitis y/o asma.

Pruebas cutáneas (Batería de inhalantes)			
Pólenes (Gramíneas)	<i>Lolium perenne</i> <i>Cynodon dactylon</i> <i>Phragmites communis</i>	Hongos	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Alternaria tenuis</i> <i>Cladosporium herbarum</i>
Pólenes	Olivo ( <i>Olea europaea</i> ) Arce ( <i>Acer Pseudoplatanus</i> ) Plátano de sombra ( <i>Platanus hibrida</i> ) Arizónica ( <i>Cupressus arizonica</i> ) Aliso ( <i>Alnus glutinosa</i> ) Roble ( <i>Quercus robur</i> ) Rumex ( <i>Rumex acetosella</i> ) <i>Quenopodium</i> ( <i>Chenopodium album</i> ) Plantago ( <i>Plantago lanceolata</i> ) Artemisa ( <i>Artemisa vulgaris</i> ) Parietaria ( <i>Parietaria judaica</i> )	Epitelios	Hámster Perro Gato Caballo
		Acaros del polvo	<i>Dermatophagoides pteronissinus</i> <i>Dermatophagoides faringe</i> <i>Lepidoglyphus destructor</i>

Se realizó una serie de determinaciones analíticas consistentes en:

- Hemograma o recuento hematimétrico.
- Cuantificación de Ig E sérica total, mediante la técnica de Immunolite DPC 1000 (DCP, Los Angeles, CA, USA), según las instrucciones del fabricante. Se consideraron valores elevados más de 100 KU/L.
- Ig E sérica específica, mediante técnica de ImmunoCAP 250 (Pharmacia, Upsala, Suecia), según las instrucciones del fabricante. Se consideraron positivos valores por encima de 0.35 KU/L. Se realizó frente a aquellos

alergenos con los que los pacientes referían síntomas sugestivos de alergia y frente a los alergenicos positivos en la batería de pruebas cutáneas.

- Triptasa sérica, mediante UNICAP (Farmacia, Upsala, Suecia). Se consideraron positivos valores por encima de 12 µg/L.
- Proteína catiónica de eosinófilo (ECP) sérica, mediante ImmunoCAP 100 (Farmacia, Upsala, Suecia). Se consideraron positivos valores por encima de 12 µg/L.

Por último, se realizan estudios de hipersensibilidad retardada cutánea mediante *pach-test* con alergenicos seleccionados según historia clínica y resultados de las exploraciones alérgicas previas.

**Tabla 4.** Pruebas cutáneas con alimentos: clasificación en familias

Pruebas cutáneas con alimentos: Clasificación de alimentos y familias.			
<b>Leche de vaca</b> Leche ALA BLG BGG Caseína BSA	<b>Moluscos bivalvos</b> Almeja Mejillón Ostra	<b>Solanáceas</b> Patata Pimentón Pimiento Tomate	<b>Rosáceas</b> Cereza Ciruela Fresa Melocotón Manzana Níspero Pera Uva
	<b>Cucurbitáceas</b> Melón Sandía	<b>Umbelíferas</b> Apio Perejil Zanahoria Ajo Cebolla Espárrago	
<b>Huevo</b> Clara Yema OVA OVM	<b>Rutáceas</b> Limón Naranja Mandarina	<b>Quenopodiáceas</b> Acelga Espinaca	<b>Leguminosas</b> Almorta Garbanzo Guisante Haba Judía blanca Judía verde Lenteja Soja
	<b>Dilináceas</b> Kiwi Higo Piña	<b>Compuestas</b> Alcachofa Escarola Lechuga	
<b>Pescados</b> Bacalao Merluza Gallo Lenguado Lenguadina Rape Atún Bonito Besugo Emperador Salmonete Boquerón Sardina	<b>Musáceas</b> Plátano Sésamo Cacao	<b>Crucíferas</b> Col Coliflor Mostaza	<b>Cereales</b> Arroz Harina avena Harina cebada Harina centeno Harina maíz Harina trigo
	<b>Frutos secos</b> Almendra Avellana Cacahuete Castaña Nuez Pipa girasol Piñón Pistacho	<b>Carnes</b> Carne de buey Carne de caballo Carne de cerdo Carne de conejo Carne de cordero Carne de pollo Carne de ternera	
<b>Moluscos cefalópodos</b> Calamar Chipirón Pulpo			<b>Otras familias</b> Aguacate Coco Chufa Dátil

## 9. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA ESTUDIO DE INMUNOHISTOQUÍMICA.

Para identificar en las muestras de biopsia las células inmunocompetentes implicadas en la reacción inflamatoria esofágica se recopilaron todas las biopsias incluidas en parafina de los 30 pacientes antes y después del tratamiento esteroideo tópico y se cortaron en secciones seriadas de 5 micrometros de grosor que fueron procesadas para su estudio inmunohistoquímico.

Se obtuvieron como controles muestras de biopsias endoscópicas de mucosa esofágica, obtenidas en el tercio superior de pacientes que se sometieron a exploración endoscópica en nuestro Servicio en los que no existía sospecha diagnóstica de EE. Para ello se seleccionaron 14 varones con edades entre 20 y 50 años: En 7 de ellos se realizó la exploración endoscópica por sospecha de úlcera gastroduodenal y se descartó la existencia de clínica de reflujo gastroesofágico, hernia de hiato, cardias incompetente y de lesiones pépticas esofágicas (estas muestras fueron consideradas "esófagos normales"). Los otros 7 controles fueron igualmente varones del mismo grupo de edad y todos mostraban lesiones pépticas esofágicas por reflujo gastroesofágico (se consideraron "esófagos con ERGE"). Todos los pacientes controles firmaron igualmente el consentimiento informado para la realización de las exploraciones y aceptaron expresamente la utilización del material biológico obtenido para fines docentes e investigadores. Las muestras obtenidas en ambos grupos de pacientes controles fueron procesadas de la misma manera que las procedentes de pacientes, tanto para su análisis convencional como inmunohistoquímico.

Las secciones de tejido incluidas en parafina fueron desparafinadas en xileno, rehidratadas mediante concentraciones graduales de etanol y equilibradas en buffer acuoso antes de su uso. La actividad peroxidasa endógena fue inactivada mediante la adición de solución acuosa de peróxido de hidrógeno al 3% durante 15 minutos a temperatura ambiente. La recuperación antigénica se consiguió mediante el procedimiento de calentamiento en una estufa de incubación (45 minutos a 150 °C. en EDTA a pH 8.2).

Posteriormente se procedió a la incubación con los anticuerpos primarios murinos específicos frente a antígenos humanos, durante 1 hora y a temperatura ambiente, y se lavaron las secciones en solución tampón.



Después de la inmunofijación del anticuerpo primario se empleó un anticuerpo secundario de ratón dirigido frente a la fracción constante de IgG murina (ChemMate™ Dako Envision™, Dakocytomation USA), que fue incubado durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Por último, la detección de la señal inmunohistoquímica se realizó mediante el sistema colorimétrico avidina-biotina, con peroxidasa como enzima de detección. Como sustrato de color se empleó diaminobenzidina.

Las preparaciones fueron contrateñidas ligeramente con hematoxilina y montadas con glicerol sobre portaobjetos para su posterior examen microscópico.

## **10. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA MUCOSA ESOFÁGICA.**

Las células inflamatorias presentes en las muestras de biopsia esofágicas fueron identificadas mediante el uso de anticuerpos monoclonales de ratón contra moléculas de superficie específicas de linajes (CD) e inmunohistoquímica. Se seleccionó una batería de anticuerpos con capacidad de reconocimiento de ciertos epitopos de linfocitos y subpoblaciones, de las células presentadoras de antígenos, de los mastocitos y de marcadores de activación de eosinófilos. Los anticuerpos ensayados y las células que identificaban se muestran en la Tabla 5.

Como controles positivos de la tinción inmunohistoquímica se emplearon secciones de epitelio cutáneo humano en el caso del anticuerpo anti-CD1a, biopsia esofágica pretratamiento de un paciente con EE para el anticuerpo anti-MBP y secciones de ganglios linfáticos humanos para el resto de los anticuerpos ensayados.

**Tabla 5:** Anticuerpos primarios utilizados para el estudio de inmunohistoquímica.

Anticuerpo	Célula reactiva	Fabricante	Dilución
Anti CD3 policlonal (Clon F7.2.38)	Linfocitos T	Dakocytomation, USA	1/100
Anti CD4 monoclonal (Clon 4B12)	Células CD4 <sup>+</sup>	Novocastra, UK	1/50
Anti CD8 monoclonal (144-B)	Células CD8 <sup>+</sup>	Dakocytomation, USA	1/100
Anti CD20 monoclonal (Clon L26)	Linfocitos B	Dakocytomation, USA	1/100
Anti CD23 monoclonal (Clon MHMG)	Receptor de baja afinidad para IgE de superficie	Dakocytomation, USA	1/50
Anti Mast-cell Tryptase monoclonal (Clon AA1)	Mastocitos	Dakocytomation, USA	1/100
Anti e-MBP monoclonal (Clon BMK13)	Proteína mayor básica del eosinófilo	Cymbus biotechnolgy, Ltd	1/100
Anti Ig E policlonal	Células plasmáticas Ig E +	Dakocytomation, USA	1/50

## 11. ANÁLISIS CUANTITATIVO Y MORFOMÉTRICO DE ELEMENTOS CELULARES DEL TEJIDO MEDIANTE ESTEREOLOGÍA.

Todos los pares de muestras de los pacientes (pre y post tratamiento) así como las muestras de los controles (tanto de tinciones de hematoxilina-eosina como para inmunohistoquímica) fueron analizados mediante un microscopio estereoscópico (Olympus BX 51) conectado a un sistema digitalizador de imagen (JVC TK-C1380) y un ordenador personal dotado del programa informático CAST (Olimpus Danmark A/S 2000).

El recuento de elementos celulares se realizó exclusivamente en el estrato epitelial o escamoso de la mucosa esofágica, y se seleccionaron aleatoriamente 50 campos de cada preparación.

Los recuentos celulares se realizaron a 1000 aumentos con selección de un área de recuento de  $1482.5 \mu\text{m}^2$  y una profundidad de campo de  $5 \mu\text{m}$ . (volumen de cada unidad de recuento:  $7412 \mu\text{m}^3$ ). Para la determinación del recuento celular se empleó la técnica de Cavaglieri<sup>119,120</sup>. Los resultados finales fueron expresados en número de elementos celulares por  $\text{mm}^3$ .

## 12. EXTRACCIÓN DE ARN DE CITOCINAS Y PCR EN TIEMPO REAL.

En 8 de nuestros pacientes analizamos la expresión de los genes codificantes de 2 citocinas (IL-5 y eotaxina-1) en el epitelio esofágico antes y después del tratamiento esteroideo. Para ello se recogieron 2 muestras de biopsia endoscópica de la mucosa del tercio superior del esófago de cada uno de los pacientes con EE antes y después del tratamiento con propionato de fluticasona, que fueron conservadas en una solución estabilizadora del ARN (RNA-later®, Ambion Inc) a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. El ARN total fue extraído mediante TriReagent (Molecular Research Center Inc) siguiendo las instrucciones del fabricante. Tras el tratamiento con ADNasa I (para degradar el ADN celular y evitar interferencias en la técnica), se transcribió  $1\mu\text{g}$  de ARN total con hexámeros de nucleótidos randomizados y transcriptasa inversa del virus de la mieloblastosis aviar (Roche) durante 1 hora a  $42^{\circ}\text{C}$ .

El análisis cuantitativo de la expresión de los genes de IL-5 y eotaxina-1 (CCL11) humanas se realizó mediante amplificación por PCR de los ADNc resultantes en un termociclador Light Cycler (Roche). Los cebadores (*primers*) empleados fueron los siguientes:

Para IL-5:

IL-5 cebador *sentido* 5'-GCT TCT GCA TTT GAG TTT GCT-3'

IL-5 cebador *anti-sentido* 5'-CCG TCA ATG TAT TTC TTT ATT AAG-3'

Para Eotaxina-1 (CCL11):

CCL11 cebador *sentido* 5'-CCA TCA ATG TAT TTC TTT ATT AAG-3'

CCL11 cebador *antisentido* 5'-CTT GAA GAT CAC AGC TTT CTG-3'

Para  $\beta$ -2 microglobulina (300 pb):

CCL11 cebador *sentido* 5'-CCA GCA GAG AAT GGA AGG TC-3'

CCL11 cebador *antisentido* 5'-GAT GCT GCT TAC ATG TCT CG-3'.

Las curvas estándar empleadas para la cuatificación del ARN mensajero (ARNm) objetivo fueron generadas mediante el empleo de diluciones seriadas (1/10) de cantidades conocidas de los productos amplificados de los genes en estudio. La cuantificación de la



expresión de los genes de IL-5 y eotaxina-1 se obtuvo a través del programa informático del termociclador Light Cycler (Roche) mediante interpolación en las respectivas curvas patrón. Las moléculas de ARNm estimadas de la cuantificación fueron normalizadas a la expresión del gen constitutivo de la  $\beta$ -2 microglobulina, calculando la relación entre las moléculas de ARNm específicas/ $\mu$ l de ADNc frente a las moléculas de  $\beta$ -2 microglobulina/ $\mu$ l de ADNc.

### 13. CONSULTA DE ARCHIVOS Y MATERIAL BIBLIOGRÁFICO.

Para conocer la epidemiología de la EE en nuestro medio se realizó una búsqueda en los archivos informáticos del Servicio de Anatomía del Hospital Universitario La Paz de Madrid de todos aquellos pacientes con informes diagnósticos de EE o infiltración de eosinófilos en el esófago, restringida a los 10 años precedentes. Los casos aportados fueron cotejados con las historias clínicas de los Servicios de Aparato Digestivo y Gastroenterología Pediátrica del hospital.

Se realizó una búsqueda informática en repertorios bibliográficos (Medline, Pubmed) con los términos de búsqueda "*Eosinophilic esophagitis oesophagitis*", "*Eosinophils*", "*Allergic esophagitis/oesophagitis*", para localizar las publicaciones referentes a esta patología. Así mismo, fueron analizados los libros de resúmenes de las 2 últimas ediciones del Congreso Nacional de la Sociedad española de Enfermedades Digestivas, de la Sociedad española de Endoscopia digestiva, y de los congresos internacionales más relevantes de la especialidad, la *Digestive Diseases Week* de Estados Unidos de América y la *United European Gastroenterological Week* de Europa. Así mismo, fueron también consultados los tratados más relevantes de las especialidades de gastroenterología, alergología e inmunología.

### 14. ESTUDIO ESTADÍSTICO.

Para la recogida y análisis de los datos obtenidos se diseñó una base de datos en formato Microsoft Access® versión 2002, que incluía los datos clínicos, pH-métricos y manométricos, los datos alergológicos y los datos resultantes del estudio histológico y estereológico.

Para el análisis estadístico se empleó el paquete informático SPSS® versión 10.0. Se analizaron los datos demográficos y basales de la población. Se usaron estadísticos descriptivos (media, mediana, desviación típica, mínimo, máximo y número de casos válidos) en las variables cuantitativas y frecuencias absolutas y relativas en las variables categóricas. Las variables respuesta cuantitativas fueron comparadas mediante el test de la *t* de Student o mediante el test de Wilcoxon cuando no se cumplían las condiciones de aplicación del primero; cuando la variable independiente era categórica con más de dos categorías se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) y cuando fue cuantitativa la regresión lineal. Las variables respuesta categóricas se compararon mediante el test de chi-cuadrado o el test exacto de Fisher si no se cumplían los requisitos del primero; cuando la variable independiente fue cuantitativa se utilizó la regresión logística. Todos los *p*-valores e intervalos de confianza fueron calculados y evaluados usando un nivel de confianza bilateral del 95%.

## 1. PACIENTES

### 1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA EE EN EL MUNICIPIO

Durante el periodo 1982 a 1985 han sido diagnosticados 11 casos de EE en el municipio de La Paz, con lo cual se ha obtenido un índice de 1,4 por cada 1000 personas en una población del orden de 7500 habitantes. Los datos han sido obtenidos de los registros de los archivos del Servicio de Neumología Patológica.

Atendiendo a estos datos y considerando que el Hospital perinatal, en el área San Juan y de Maternidad de La Paz, es la institución encargada durante el periodo de estudio de la EE en pacientes pediátricos, cultura de amonios, en 10 habitantes y de parvovirus en 10 habitantes de 4 de agosto del año 1985.

Si observamos la distribución de los casos en el

## RESULTADOS

periodo de tiempo han sido diagnosticados de La EE en 11 casos, con una prevalencia de 1,4 casos por 1000 habitantes.

De los datos epidemiológicos podemos afirmar que la EE en el área urbana y de Maternidad de La Paz, con una prevalencia de 1,4 casos por 1000 habitantes.

La Tabla 1 detalla el número de casos de EE en el periodo

Tabla 1. Distribución de los casos de EE en el periodo

	1982	1983	1984	1985
Varones	1	1	1	1
Mujeres	1	1	1	1
Presumptivos	1	1	1	1

### 1.2. PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO

Entre agosto de 1982 y noviembre de 1985 han sido diagnosticados 11 casos de EE en el Servicio de Neumología Patológica de La Paz, con lo cual se ha obtenido un índice de 1,4 por cada 1000 habitantes.



## 1. PACIENTES.

### 1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA EE EN NUESTRO MEDIO.

Durante el periodo 2002 a 2005 han sido diagnosticados y atendidos en el Hospital Universitario "La Paz" de Madrid un total de 57 pacientes (22 niños y 35 adultos) que presentaban una infiltración del epitelio esofágico por más de 24 eosinófilos/HPF, según los archivos del Servicio de Anatomía Patológica.

Atendiendo a estos datos y considerando que la población atendida en nuestro hospital perteneciente al área Sanitaria V de Madrid es de 788.000 habitantes, y que esta cifra se ha mantenido estable durante el periodo de nuestro estudio, podemos estimar para la EE en pacientes adultos unas cifras de incidencia anual entre 0 y 2.54 casos/100.000 habitantes y de prevalencia acumulada de 4.44 casos por 100.000 habitantes al final del año 2005.

Si observamos los datos correspondientes al Hospital Infantil La Paz, en el mismo periodo de tiempo han sido diagnosticados de EE 22 niños, lo que supone una prevalencia acumulada de 2.8 casos por 100.000 habitantes.

De este modo, globalmente, podemos estimar una incidencia anual media para la EE en el área sanitaria V de Madrid de 1.8 casos por 100.000 habitantes y año, y una prevalencia acumulada global de 7.2 casos por 100.000 habitantes.

La Tabla 6 detalla el número de casos diagnosticados durante el periodo de estudio.

**Tabla 6.** Incidencias y prevalencia acumulada de EE en nuestro hospital.

	2002		2003		2004		2005		Total
	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	Niños	Adultos	
<b>Incidencia</b>	8	0	4	4	6	11	4	20	
<b>Prevalencia</b>	8	0	12	4	18	15	22	35	57

### 1.2. PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO.

Entre mayo de 2002 y noviembre de 2005 han sido diagnosticados de Esofagitis Eosinófilica en el Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario La Paz e incluidos en el presente estudio 30 pacientes adultos, 3 mujeres y 27 varones. Las edades

en el momento del diagnóstico oscilaron entre los 16.5 y 66.5 años, con una media de 36.2 y una mediana de 35.1.

Los 5 pacientes restantes con diagnóstico histológico de EE no fueron considerados para este trabajo porque uno de ellos rechazó la participación en el mismo, y, los 4 casos restantes, no habían completado el estudio o el tratamiento en el momento del análisis de los datos (final del año 2005).

### **1.2.1. Motivo de consulta.**

Trece pacientes fueron diagnosticados tras precisar endoscopia alta de urgencia por impactación de alimento en el esófago y 17 pacientes fueron remitidos por su médico a la unidad de Endoscopia o a las consultas de Aparato Digestivo para estudio de disfagia o síntomas esofágicos.

### **1.2.2. Antecedentes clínicos.**

El 63.3 % de los pacientes (n=19) presentaba clínica de disfagia crónica e intermitente de larga evolución, y el 83.3 % de ellos (n=25) había presentado episodios previos de impactación alimentaria esofágica, que en más de la mitad de los casos (13 pacientes) había requerido en alguna ocasión resolución endoscópica urgente. La mayor parte de nuestros pacientes (53.3 %) presentaba ambos tipos de síntomas. El tiempo de evolución de estos síntomas varió entre 1 y 385 meses previos al momento del diagnóstico, con media de 94.7 y mediana de 51.8 meses.

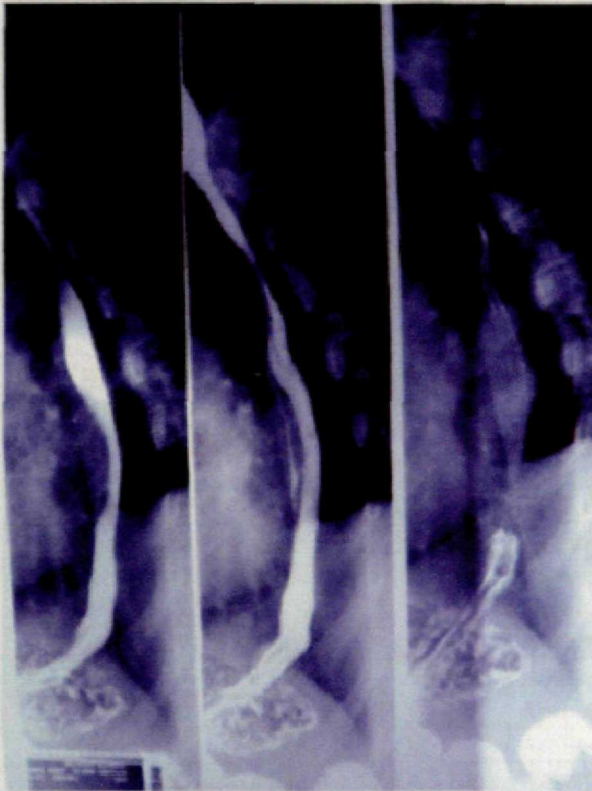
Los 2 pacientes restantes mostraban síntomas esofágicos diferentes a disfagia e impactaciones, tales como opresión epigástrica, pirosis, dolor retroesternal, o manifestaciones inespecíficas de tipo dispéptico, con un tiempo medio de evolución hasta el diagnóstico de EE de 84 meses.

Veintitrés pacientes (76.6%) habían precisado exploración endoscópica previa, bien de manera programada en el estudio de sus síntomas (12 pacientes) o bien urgente por impactación alimentaria (13 pacientes). El número de exploraciones endoscópicas realizadas previamente a la que condujo al diagnóstico osciló entre 5 y 1, con una media de 2. El tiempo medio transcurrido desde la primera exploración endoscópica realizada y la

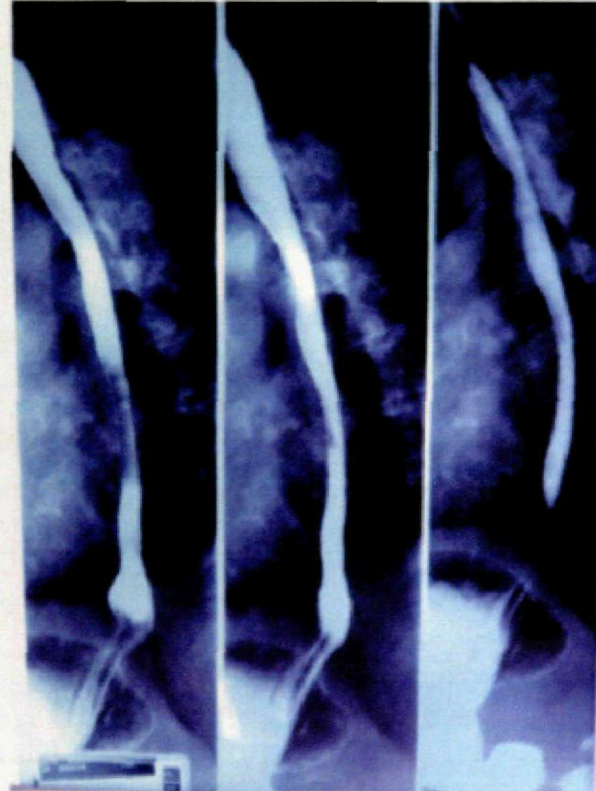


que condujo al diagnóstico de EE fue de 39.38 meses, oscilando entre 372.57 y 0 (para aquellos pacientes en los que la primera endoscopia realizada fue la diagnóstica).

Seis pacientes contaban con estudio radiológico con bario del tracto digestivo alto, en uno de ellos se observaba estenosis larga de los dos tercios distales del órgano, en otros dos indentaciones a modo de anillos, que en un caso se localizaban en la unión de tercios superior y medio, y en el otro a lo largo de los 2 tercios inferiores. En los 3 restantes pacientes el estudio era normal.



**Figura 4.** Esofagograma baritado del Caso 18 con estenosis anillada en un segmento corto de la unión de tercios superior y medio.



**Figura 5.** Esofagograma baritado del paciente 30, que muestra indentaciones intermitentes a lo largo de los 2 tercios distales del esófago.



**Tabla 7.** Cuadro resumen de las características clínicas iniciales de los pacientes incluidos en nuestro estudio. Leyenda: RGE: Reflujo gastroesofágico; EEI: Esfínter esofágico inferior; DC: disfagia crónica; IA: Impactaciones alimentarias; N/D: No disponible.

Caso	Sexo	Edad (años)	Tiempo con síntomas (meses)	Clínica	Calibre esofágico	Mucosa	RGE	Patrón motor del cuerpo esofágico	EEI: Presión de reposo (mmHg)/comp ortamiento dinámico
1	Varón	32	1	DC /IA	Estenosis concéntrica	Normal	No	Hipercinético	9/normal
2	Varón	29	20	IA	Estenosis concéntrica	Normal	No	Normal	16/normal
3	Varón	38	300	DC/ IA	Anillos	Granular	Si	Hipercinético	10/anormal
4	Varón	28	14	IA	Normal	Corrugada	Si	Hipoperistáltico	18/anormal
5	Mujer	18	22	DC	Anillos	Normal	Si	Hipoperistáltico	20/normal
6	Varón	37	22	DC/ IA	Normal	Ondulada	Si	Hipoperistáltico	7.5/anormal
7	Varón	17	22	DC/ IA	Normal	Corrugada	No	Hipoperistáltico	14/anormal
8	Varón	25	12	IA	Normal	Corrugada	No	Hipoperistáltico	10.5/anormal
9	Varón	27	78	DC/ IA	Estenosis concéntrica	Corrugada	Si	Hipoperistáltico	8.5/anormal
10	Varón	24	138	DC/ IA	Anillos	Exudados	No	Hipoperistáltico	12/anormal
11	Varón	16	30	DC/ IA	Estenosis concéntrica	N/D	Si	Hipoperistáltico	13/anormal
12	Varón	35	385	DC/ IA	Anillos	Normal	Si	Hipoperistáltico	14/anormal
13	Varón	22	54	DC/ IA	Estenosis concéntrica	Corrugada	No	Hipoperistáltico	27/anormal
14	Varón	51	126	IA	Anillos	Granular	Si	Hipercinético	12/anormal
15	Varón	59	126	IA	Anillos	Granular	No	Hipercinético	13/Anormal
16	Mujer	37	30	DC/ IA	Anillos	Exudados	No	Hipoperistáltico	8/anormal
17	Varón	41	246	IA	Estenosis concéntrica	Corrugada	No	Hipercinético	25/anormal
18	Varón	29	54	IA	Anillos	Normal	N/D	Hipoperistáltico	30/anormal
19	Varón	35	126	DC/ IA	Normal	Granular	No	Hipoperistáltico	9/anormal
20	Varón	60	54	DC/ IA	Anillos	Normal	No	Hipercinético	17/normal
21	Mujer	16	180	DC	Anillos	Normal	No	Normal	18/normal
22	Varón	57	33	DC/ IA	Normal	Granular	N/D	N/D	N/D
23	Varón	34	18	Atípica	Normal	Exudados	No	Hipercinético	12/Anormal
24	Varón	35	42	DC	Anillos	Corrugada	No	Hipoperistáltico	18/normal
25	Varón	36	18	Atípica	Anillos	Corrugada	Si	Normal	10.5/anormal
26	Varón	32	150	DC/ IA	Anillos	Exudados	No	Hipoperistáltico	21normal
27	Varón	66	186	DC/ IA	Anillos	Granular	No	Hipercinético	12/Anormal
28	Varón	30	180	IA	Anillos	Exudados	No	Hipoperistáltico	16.5/Anormal
29	Varón	59	150	IA	Anillos	Corrugada	N/D	Hipercinético	13/normal
30	Varón	35	120	DC/ IA	Anillos	Corrugada	No	Hipoperistáltico	21/Anormal

### 1.2.3. Tratamiento administrado.

Todos los 30 pacientes incluidos en este estudio recibieron tratamiento tópico con propionato de fluticasona durante un periodo inicial de 3 meses. En dos pacientes se había realizado previamente dilatación esofágica endoscópica mediante balón neumático, con alivio temporal de los síntomas y recaída posterior.

Tras el tratamiento esteroideo topico se repitió la esofagoscopia y toma de biopsias en tercios superior e inferior del órgano y la encuesta de valoración clínica.

En 24 pacientes se objetivó una mejoría histológica, consistente en la resolución del infiltrado eosinofílico y en la normalización de la estructura histológica del epitelio esofágico. En 6 pacientes persistió el infiltrado patológico, pese a que todos refirieron una *mejoría sintomática evidente*. En estos casos se repitió un nuevo ciclo de tratamiento de otros 3 meses y nueva endoscopia al finalizar el mismo. Tres pacientes mostraron respuesta histológica tras 6 meses de tratamiento. En los 3 restantes persistió la infiltración eosinofílica epitelial.

## 2. ESTUDIO ALERGOLÓGICO.

### 2.1. ANTECEDENTES ALÉRGICOS.

Veintisiete pacientes completaron el estudio alergológico inicial consistente en determinaciones sanguíneas y pruebas cutáneas de *prick test*. En 14 de ellos existían antecedentes familiares de distintas manifestaciones atópicas. Cuatro pacientes carecían de manifestaciones alérgicas conocidas previamente y en ellos nunca habían sido realizados estudios de este tipo.

Entre los antecedentes personales de los pacientes con manifestaciones alérgicas previas, 5 pacientes habían presentado rinoconjuntivitis, 6 pacientes asma bronquial y otros 6 ambos tipos de síntomas. Nueve pacientes conocían sensibilización a distintos alimentos, que estaba ausente en 18 de ellos. Un paciente presentaba alergia a medicamentos, otro había sido diagnosticado de dermatitis atópica y ninguno de ellos mostraba sensibilización frente al látex.

### 2.2. ESTUDIOS DE SENSIBILIZACIÓN MEDIANTE *PRICK TEST*.

En 3 pacientes no se detectaron sensibilizaciones a inhalantes ni a alimentos. En 6 se observó sensibilización exclusivamente frente a aeroalergenos mediante pruebas cutáneas de *prick* y en 2 sensibilización exclusiva frente a alimentos. En la mayor parte de los casos (16 pacientes) las pruebas cutáneas de *prick* mostraron sensibilización tanto a inhalantes como a alimentos.

En cuanto a la distribución de los alérgenos en las pruebas cutáneas de *prick*, 22 pacientes mostraron sensibilización frente a aeroalérgenos (22 a polen, 5 a epitelios animales, 6 a ácaros del polvo y 3 a hongos) y en 18 casos frente a distintos alimentos (9 a legumbres, 8 a frutos secos, 7 a cereales, 5 a frutas, 6 a pescado y/o crustáceos), 2 a proteínas de leche de vaca, 3 a huevos, 1 a anisakis y 1 a miel).

### **2.3. RESULTADOS ANALÍTICOS.**

El recuento de eosinófilos en sangre periférica se mostró elevado ( $>350$  células/mm<sup>3</sup>) en 12 pacientes de los 27 estudiados. El valor medio de eosinófilos en la serie completa fue de 459.09/mm<sup>3</sup>, y la mediana de 370, con un rango de 1380 a 100.

En 15 pacientes se detectaron valores elevados de Ig E sérica total (por encima de 100 KU/L). La Ig E sérica total media fue de 364,35 KU/L, la mediana de 153, y el rango de 13 a 1830 KU/L.

Todos los pacientes mostraron cifras normales de Triptasa en suero ( $<12$  µg/L) (media de 4.4 mcg/L, mediana de 3.57, rango 1.5 a 8.8), pero la Proteína Cationica del eosinófilos (ECP) estuvo incrementada ( $>12$  µg/L) en 15 pacientes (media de 124 mcg/L, mediana de 19.95 y rango de 3.2 a 58.6 mcg/L).



### 3. HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS.

Los hallazgos endoscópicos fueron descritos atendiendo a dos aspectos diferentes que consideramos independientes en cuanto a su presentación en los distintos pacientes:

#### A. Las alteraciones en el calibre del esófago: Manifestadas por:

- Estenosis regulares concéntricas, que impiden la observación de la luz distal y el avance del endoscopio.
- Anillos segmentarios de presentación simultánea a lo largo de la longitud del esófago, que, aunque reducen la luz del mismo, permiten valorar las características de la mucosa a su través, pero ocasionalmente impiden el avance del endoscopio, produciendo el efecto de estenosis paradójica.
- Esófagos de calibre normal.

**B. Alteraciones en el aspecto de la mucosa:** Aunque en un mismo paciente los hallazgos podían ser complejos o múltiples, se consideró aquel más destacado o relevante a juicio del explorador.

#### 3.1. ENDOSCOPIA INICIAL O DIAGNÓSTICA.

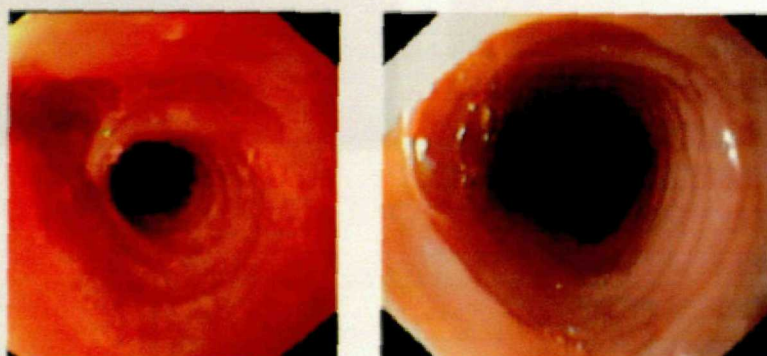
En 17 pacientes (56.7% de nuestra serie) la exploración endoscópica que condujo al diagnóstico describió la existencia de múltiples anillos de contracción simultánea a lo largo de los dos tercios distales del esófago, que ocasionalmente (2 pacientes) impedían el avance del instrumento, aunque permitían la observación de la luz distal del órgano, proporcionando una sensación de estenosis paradójica.

Seis pacientes (20%) presentaron estenosis regulares concéntricas, que en 5 de ellos se localizaban en la unión de los tercios superior y medio esofágicos y en el caso restante se encontraba en el tercio distal. Dichas estenosis impedían tanto el avance del endoscopio como la observación de la mucosa distal a las mismas.

En 7 pacientes (23.3%) el calibre del esófago resultó normal, sin estenosis ni anillos, con independencia de las lesiones mucosas observadas.

Respecto al aspecto endoscópico de la mucosa de nuestros pacientes, en 6 de ellos (20%) se observaron sobreelevaciones papulares circunscritas que le conferían un aspecto granular. Diez pacientes (33,3%) presentaron surcos lineales longitudinales que recorrían toda la longitud esofágica a modo de estriaciones (corrugación). En un paciente (3,3%) el esófago mostraba ondulaciones transversales. En 5 pacientes (16,6 %) se describieron lesiones exudativas mucosas, bien a modo de pápulas blanquecinas de diferentes tamaños con tendencia a agruparse (3 casos) o bien como grandes lesiones blanquecinas exudativas de aspecto fibrinoide (2 casos). En 7 pacientes (23,3%) el endoscopista definió la mucosa como "normal", y en 1 paciente (3,3%) no se pudo describir el aspecto de la mucosa por presencia de estenosis.

En las sucesivas exploraciones endoscópicas realizadas a varios de nuestros pacientes se describieron hallazgos diferentes, en ausencia de tratamiento específico, hecho sugestivo de que los hallazgos endoscópicos no respondían exclusivamente a lesiones orgánicas.



**Figura 6.** Endoscopias pre-tratamiento del paciente número 2, realizadas en el intervalo de 1 semana. Entre ellas no media tratamiento específico alguno.

### **3.2. ENDOSCOPIA POST-TRATAMIENTO.**

En la endoscopia realizada tras el tratamiento esteroideo tópico, 29 pacientes (96,6%) mostraron un esófago de calibre normal. En un paciente persistía el aspecto anillado del esófago. No se observó ninguna estenosis en la luz del órgano.

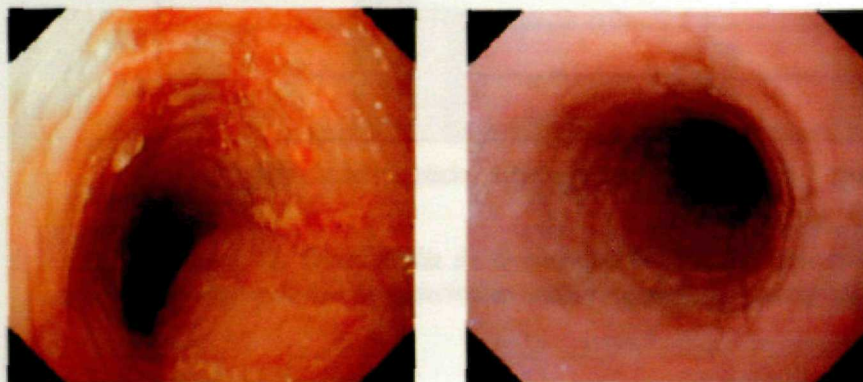
Respecto al aspecto de la mucosa, en la mayoría de los pacientes (n=19) tras el tratamiento fue descrita como normal (63,3%), mientras que en el 13,3% se describió una *apariencia granular* (n=4) y en el 23,3% de nuestra serie (n=7) se observaron estriaciones longitudinales (corrugación). No se observaron exudaciones en ningún caso.



En 11 de nuestros pacientes (36.7%) la endoscopia demostró la existencia de una hernia de hiato. En 16 pacientes se excluyó la existencia de la misma (53.3%), y en los 3 pacientes restantes no se pudo determinar por la existencia de una estenosis esofágica.

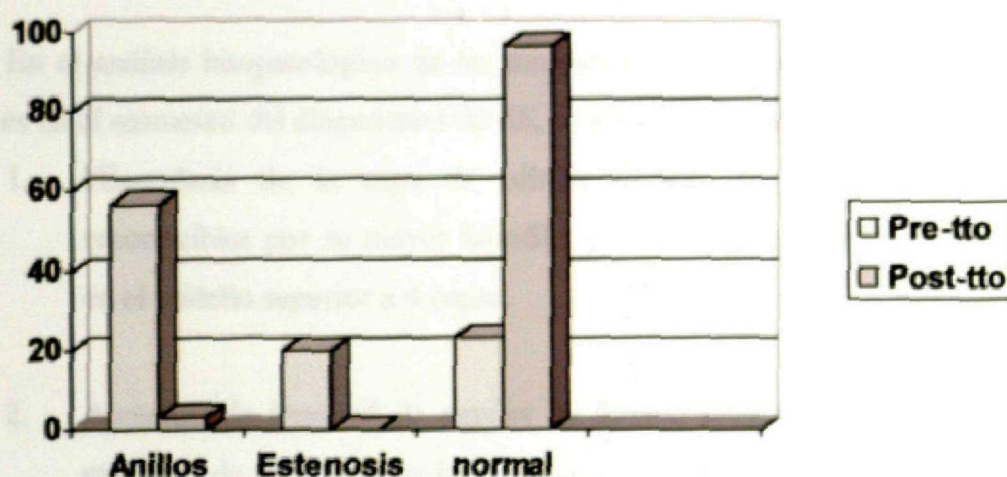


**Figura 7.** Imágenes endoscópicas pertenecientes al Caso 19, que acudió por impactación carnica en esófago, sobre mucosa inflamada, erosionada e irregular. Tras el tratamiento esteroideo, resolución de las lesiones.



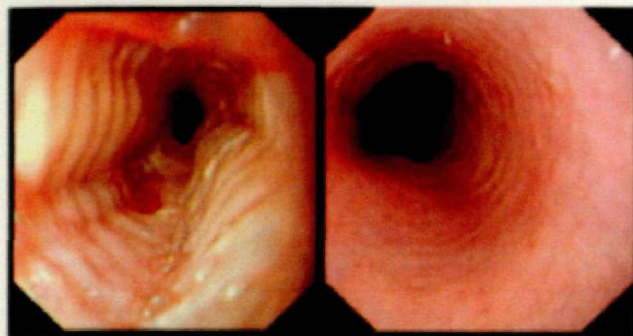
**Figura 8:** Caso 24: Esófago de calibre reducido, mucosa ondulada, corrugada y con exudados. Tras el tratamiento, solo persiste estricción muy tenue.

#### ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO

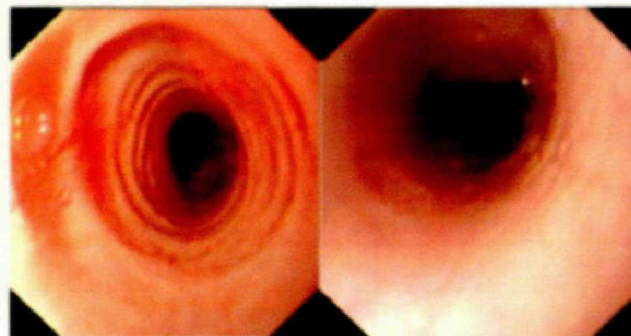


**Figura 9.** Distribución de los hallazgos endoscópicos en el calibre esofágico pre y post-tratamiento de nuestros pacientes (en %).

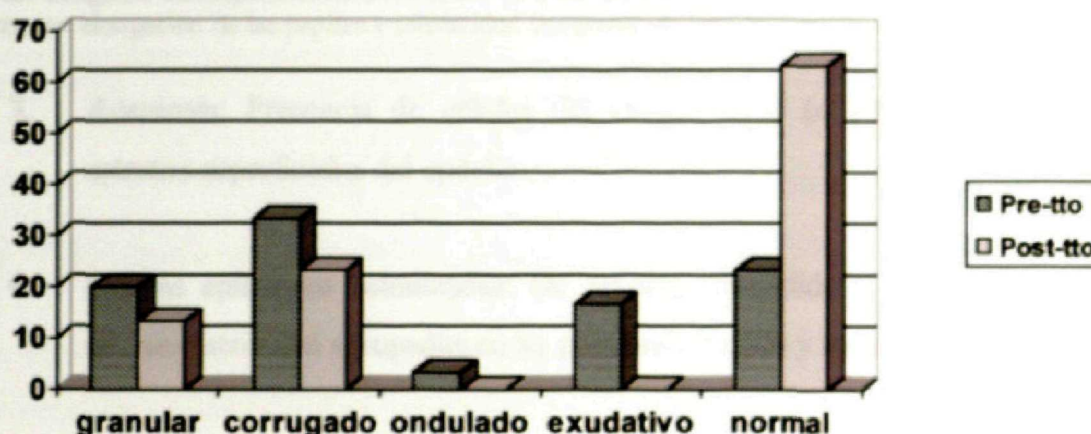




**Figura 10.** Aspecto del esófago del paciente 26 antes y después del tratamiento



**Figura 11.** Calibres y mucosas esofágicas del paciente 9 pre y post-tratamiento esteroideo.



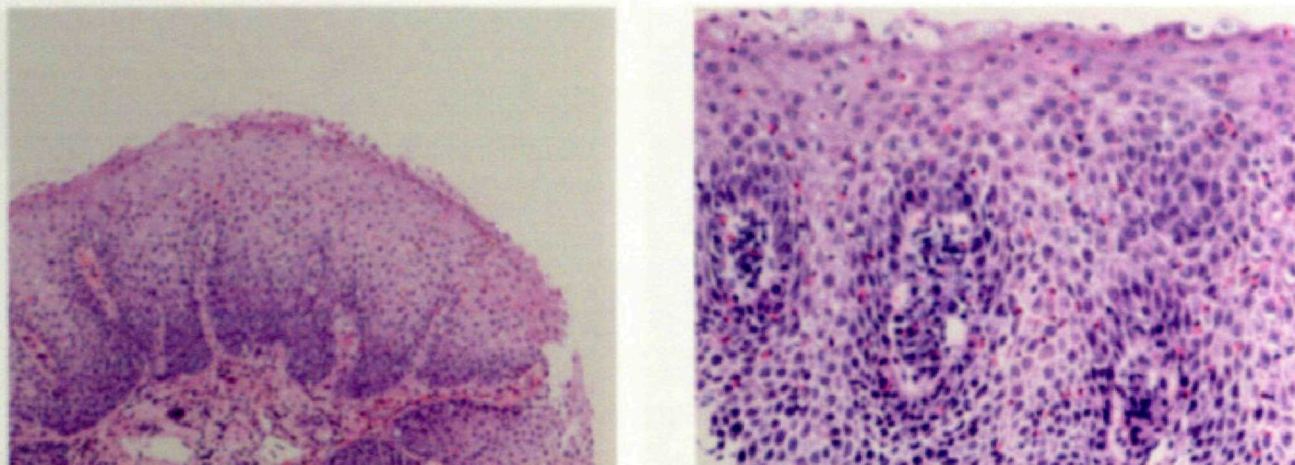
**Figura 12.** Distribución de frecuencias (en %) del aspecto de la mucosa esofágica de nuestros pacientes antes y después del tratamiento.

#### 4. ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO.

En el análisis histopatológico de las muestras de epitelio mucoso esofágico en nuestros pacientes en el momento del diagnóstico de EE, se encontraron los siguientes hallazgos:

1. Hiperplasia de la capa de células basales del epitelio. Las células basales, reconocibles por su mayor basofilia y morfología poligonal, alcanzaron una altura en el epitelio superior a 4 capas.
2. Aumento de longitud de papilas de *lamina propria* (papilomatosis). En aquellas muestras de tejido bien orientadas se pudo apreciar que las papilas alcanzaban más de 2 tercios del espesor del epitelio esofágico. En algunos casos se pudo apreciar dilatación de los elementos vasculares contenidos en las papilas.

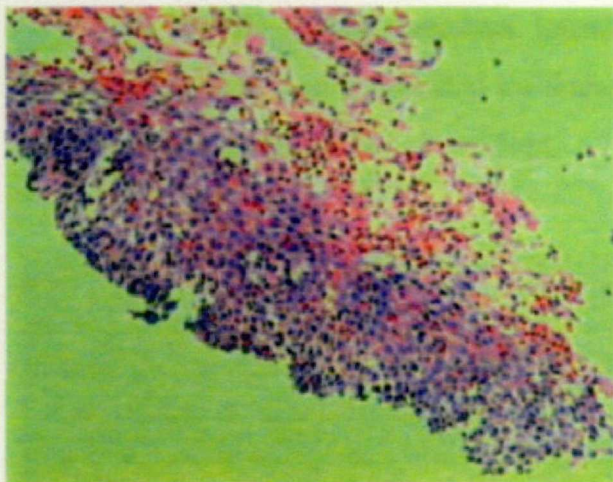




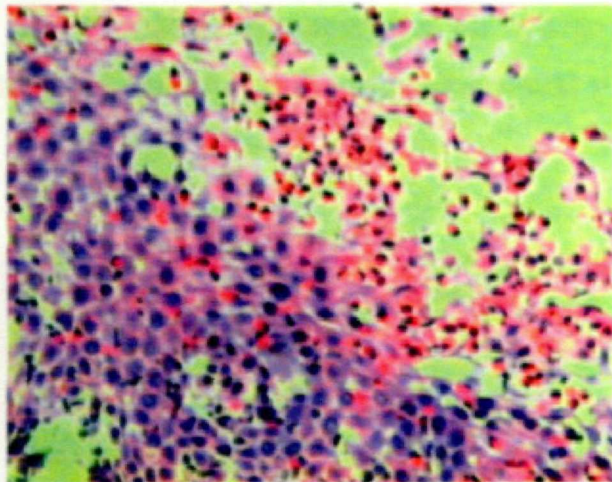
**Figura 13.** Imágenes correspondientes a los casos 13 y 28 respectivamente, que muestran un epitelio engrosado con elongación de las papilas y celularidad incrementada (ver descripción en el texto).

3. **Acantosis:** Presencia de células del estrato basal (o proliferativas) situadas en estratos superficiales del epitelio.
4. **Células epiteliales balonzadas:** De aspecto distendido y con núcleos picnóticos, que se distribuían agrupadas en las porciones medias y superficiales del epitelio.
5. **Infiltrado inflamatorio por eosinófilos:** Como elementos más característico de la enfermedad, se distribuían por todo el epitelio, pero muestran mayor tendencia a ocupar las porciones más superficiales del mismo, donde con frecuencia se agrupaban en microabscesos constituidos por 3 a 6 células, y situados generalmente en la superficie del epitelio, inmediatamente por debajo o a nivel de la capa más superficial de células epiteliales. En algunos pacientes se observó la existencia de verdaderos agregados de leucocitos eosinófilos que formaban auténticas bolsas purulentas y despegaban el epitelio suprayacente.



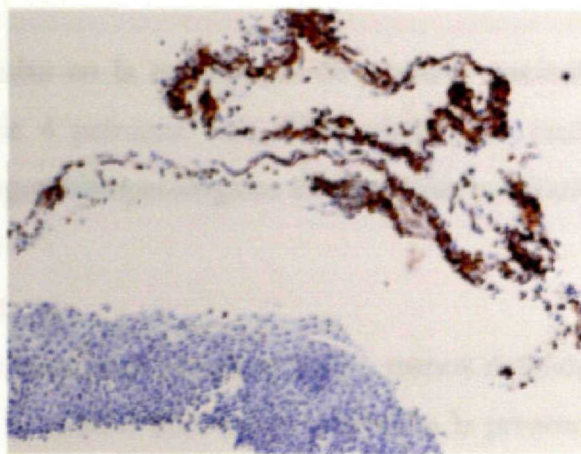
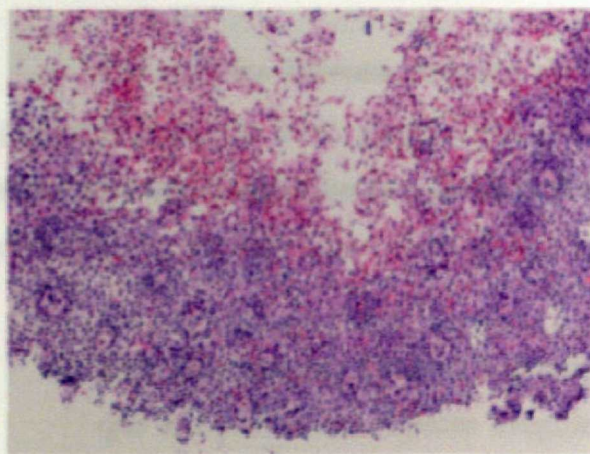


**Figura 14.** Biopsia esofágica con celularidad aumentada y denso infiltrado por leucocitos eosinófilos que confluyen en la porción luminal del epitelio (H-E, x100)



**Figura 15.** Detalle de la biopsia anterior, en la que se aprecian abscesos de eosinófilos con despegamiento de la porción superficial del epitelio (H-E, x200).

6. Erosiones o ulceraciones, manifestadas por pérdida de las capas más superficiales del epitelio, especialmente presentes en los casos de más severa infiltración eosinofílica superficial.

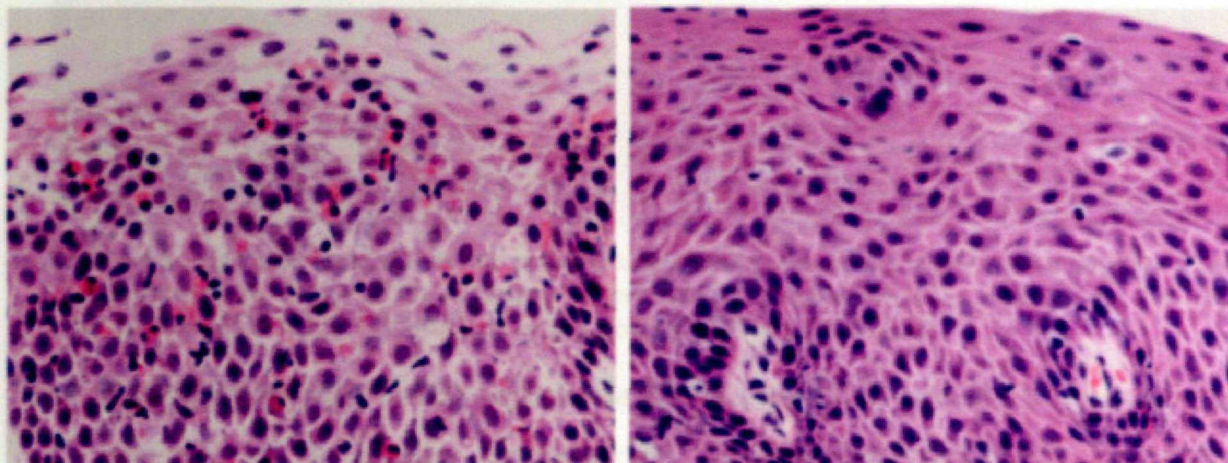


**Figura 16.** A la izquierda, ulceración y marcada destrucción de la superficie tisular por grandes agregados abscesiformes constituidos por eosinófilos. A la derecha, inmunotinción frente a MBP de la misma preparación que muestra eosinófilos activados que desprenden en grandes capas la porción más superficial del epitelio (H-E e inmunoperoxidasa, x100).

En 4 pacientes se observó infiltrado diagnóstico de EE sólo en las biopsias del tercio superior del esófago, mientras que las del tercio inferior mostraron signos sugestivos de esofagitis péptica, aun cuando se disponía de pH-metría de 24 horas en rangos normales. Tras el tratamiento antisecretores potente las biopsias repetidas resultaron diagnósticas de EE en ambos tercios esofágicos en todos los casos.



El estudio de las muestras tomadas tras el tratamiento mostraban un epitelio esofágico normal, con celularidad en límites normales, buena organización arquitectural y sin infiltrado patológico por eosinófilos.



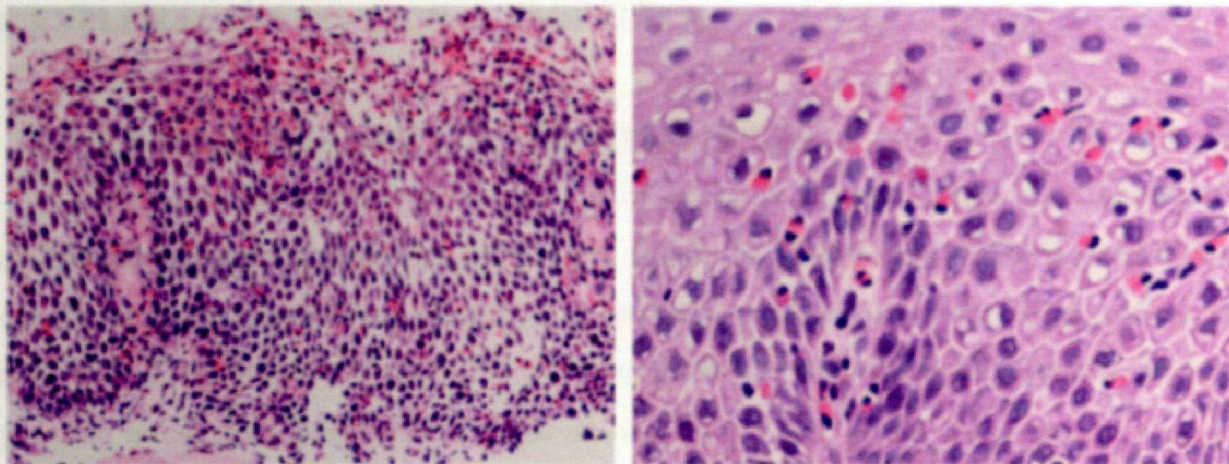
**Figura 17.** Histología esofágica del caso 20 antes (izquierda) y después (derecha) del tratamiento. (H-E, x400).

## 5. CORRELACIÓN ENDOSCÓPICO-HISTOLÓGICA.

Las posibles lesiones mucosas apreciadas en la endoscopia de nuestros pacientes pudieron reducirse a un grupo restringido de 4 patrones bien diferenciados, los cuales mostraron una correlación con distintos hallazgos histopatológicos en el análisis cualitativo de las biosias correspondientes a cada paciente:

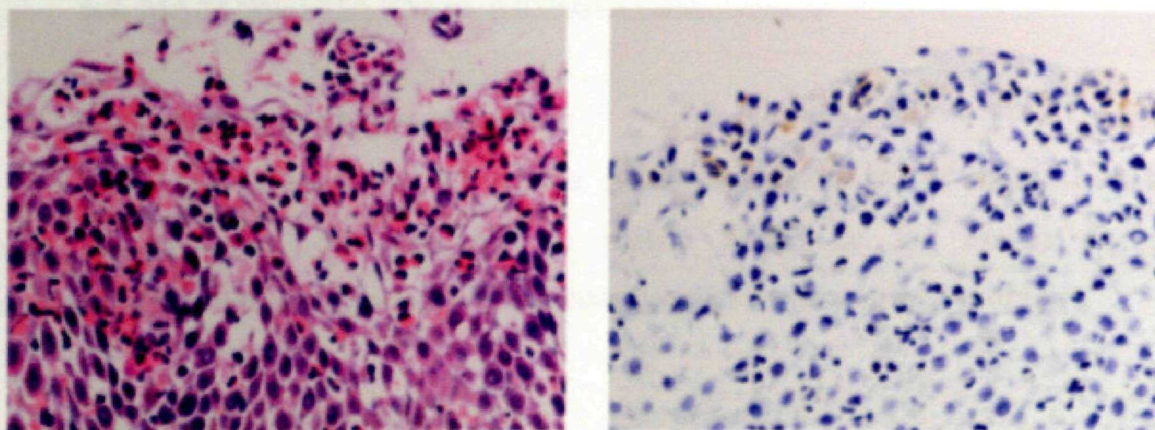
- a) **Patrón granular:** Mucosa con sobreelevaciones papulares más o menos definidas, que le conferían un aspecto irregular. El análisis histológico destacaba la presencia de cambios histológicos propios de EE con diferentes intensidades en distintas áreas.
- b) **Patrón corrugado:** Surcos o estrias lineales longitudinales (corrugación esofágica), que se extendían a lo largo del esófago, y que podrían corresponder a las líneas de plegamiento del mismo, remarcadas por edema mucoso. En la histología destacaba edema de la mucosa, con aumento de los espacios entre las células epiteliales (Figura 18).





**Figura 18.** Izquierda: Aumento de los espacios intercelulares determinados por edema epitelial y cambios hiperregenerativos (H-E x200). Derecha: Vacuolización citoplasmática y aumento de los espacios intercelulares (H-E x400). Obsérvese en ambos casos el infiltrado eosinofílico.

- c) **Patrón ondulado:** Podría expresar la contracción de la *muscularis mucosae* (no valorable en las biopsias endoscópicas). No debe confundirse con los anillos formados por la contracción simultánea de la capa interna o circunferencial de la muscular propia del órgano, que en este caso reducen la luz del mismo.
- d) **Patrón exudativo:** Lesiones blanquecinas de distintos tamaños (desde un fino punteado hasta lesiones de tipo descamativo), que traducen acúmulos epiteliales o microabscesos constituidos por eosinófilos (Figura 19).



**Figura 19:** Izquierda: Acúmulo intraepitelial de eosinófilos en la superficie del epitelio, formando un verdadero microabsceso (H-E x400). Derecha: Inmunotinción frente a MBP en la misma preparación, que muestra activación de estas células (inmunoperoxidasa x400).



## 6. EXPLORACIÓN FUNCIONAL ESOFÁGICA.

### 6.1. PH-METRÍA AMBULATORIA DE 24 HORAS:

Mediante pH-metría ambulatoria de 24 horas se detectó reflujo gastroesofágico (RGE) patológico en 9 pacientes (30% de la serie). En 18 pacientes (60%) se excluyó la existencia de RGE mediante pH-metría y en los 3 pacientes restantes no se realizó la exploración por distintos motivos: un paciente rechazó la realización de la prueba, en otro paciente no se pudo introducir la sonda de medida a través de las fosas nasales y en el último no se consideró indicada la exploración al estar el paciente bajo tratamiento antisecretor potente desde más de 3 meses antes de la toma de las biopsias esofágicas diagnósticas.

Se observó una buena asociación entre la existencia de hernia hiatal en la endoscopia y de RGE patológico en la pH-metría de 24 horas, demostrada mediante test de  $\chi^2$  de Pearson: Así, el 66.7% de los pacientes con hernia de hiato mostraban RGE patológico, y el 60% de los registros de pH-metría esofágica patológica correspondieron a pacientes con hernia de hiato en la endoscopia ( $\chi^2=4.626$ ,  $p=0.031$ ).

### 6.2. MANOMETRÍA ESTACIONARIA ESOFÁGICA.

#### 6.2.1. **Esfínter esofágico superior:**

El estudio manométrico del esfínter esofágico superior (EES) resultó normal en todos los pacientes, con presiones de reposo dentro de los límites normales, comportamiento dinámico normal y buena coordinación motora faringo-esofágica.

#### 6.2.2. **Esfínter esofágico inferior:**

El esfínter esofágico inferior (EEI), previo al tratamiento, presentó una presión basal de reposo por debajo de límites normales (EEI hipotenso) en 12 pacientes (40% de los casos). Sin embargo, sólo 3 de los pacientes con EEI hipotenso presentaban hernia hiatal (27.3%). En sólo 5 de los pacientes con EEI hipotenso se demostró un RGE patológico mediante pH-metría de 24 horas (41.7%). Mediante test de  $\chi^2$  de Pearson no se observó asociación entre la existencia de un EEI hipotenso y la presencia de lesiones endoscópicas (hernia hiatal) o de RGE patológico en la pH-metría de 24 horas, como



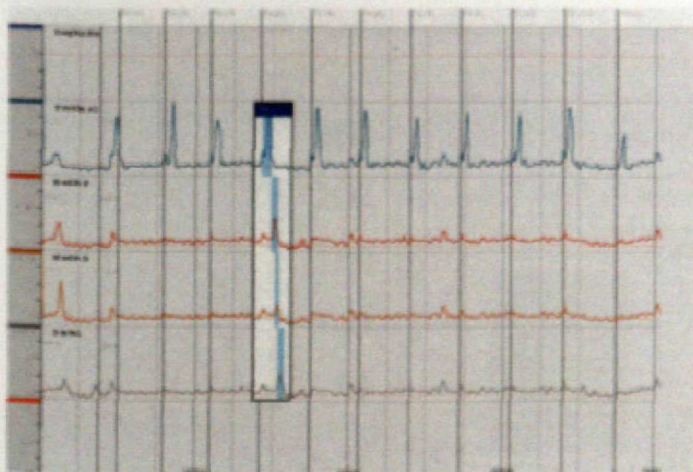
demostración de que la disfunción motora del cardias en la EE es independiente de la existencia de lesiones orgánicas determinantes de reflujo gastroesofágico.

Paralelamente a lo anterior, la presión media de reposo del EEI previa al tratamiento fue de 17.32 mmHg, incrementándose hasta los 19.98 mmHg tras el tratamiento con propionato de fluticasona tópico, aunque no se mostraron diferencias estadísticamente significativas entre estos dos valores.

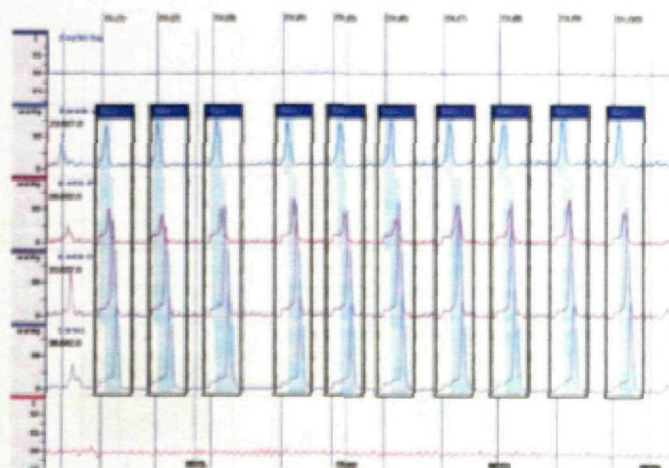
El comportamiento dinámico del EEI previo al tratamiento mostró alteraciones en el 73.3% de los pacientes (22 casos). Tras el tratamiento tópico con propionato de fluticasona, sólo en 3 pacientes (10%) persistió un comportamiento dinámico alterado para el EEI. Demostramos diferencias estadísticamente significativas mediante el test Z de Mantel-Haenszel ( $p < 0.05$ ).

### 6.2.3. Cuerpo esofágico:

Respecto al comportamiento dinámico del cuerpo esofágico, más de la mitad de los pacientes (60%, 17 casos) mostraban un patrón motor de tipo hipodinámico o hipoperistáltico, caracterizado por un predominio de ondas peristálticas de muy baja amplitud ( $< 20$  mmHg) o no transmitidas en los 2 tercios inferiores del esófago y por una amplia proporción ( $> 20\%$ ) de ondas simultáneas y no transmitidas (Figura 20).



**Figura 20.** Registro manométrico del cuerpo esofágico, correspondiente al Caso 11, que muestra un trastorno motor severo, con aperistalsis casi completa. La onda remarcada es la única peristáltica, pero de baja amplitud.



**Figura 21.** Registro manométrico del cuerpo esofágico correspondiente al Caso 23, que muestra ondas peristálticas de amplitud muy aumentada en los dos tercios inferiores esófago (trastorno hipercinético).

Nueve pacientes (30% de la serie) presentaban un trazado manométrico caracterizado por un claro predominio de ondas peristálticas de gran amplitud en los 2 tercios distales del cuerpo esofágico ( $>122$  mmHg en tercio distal), con un patrón motor claramente hipercinético (Figura 21).

En tres pacientes el estudio manométrico del cuerpo esofágico resultó normal (10%) y un paciente rechazó la exploración.

Resultó muy llamativo el hecho de que los trastornos motores objetivados afectaron exclusivamente a la porción del esófago constituida por músculo liso.

Se analizó el tiempo de evolución de los síntomas hasta el diagnóstico en función del tipo de patrón manométrico del cuerpo esofágico que mostraron nuestros pacientes: hipoperistáltico, hiperperistáltico o motilidad normal. Los resultados obtenidos se expresan en la figura 22, y muestran que los pacientes con esófagos hipoperistálticos presentaban un mayor tiempo medio de evolución clínica de 137.42 meses (SD=122.63) que aquellos otros con dinámicas esofágicas hipercinéticas, con 66.42 meses (SD=97.34), existiendo diferencias estadísticamente significativas entre estas dos cifras. Los pacientes con dinámicas normales mostraban un tiempo medio de evolución de 95.06 meses (SD=112.71).

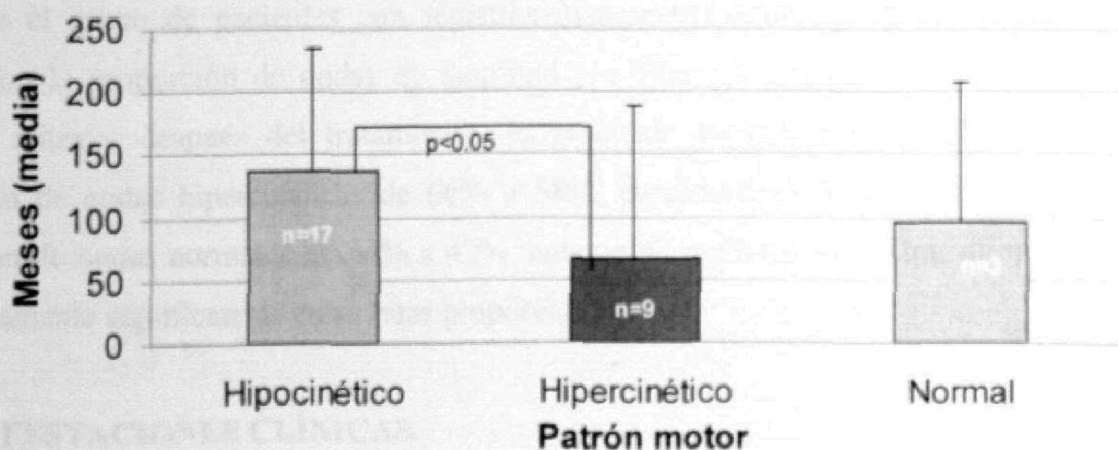
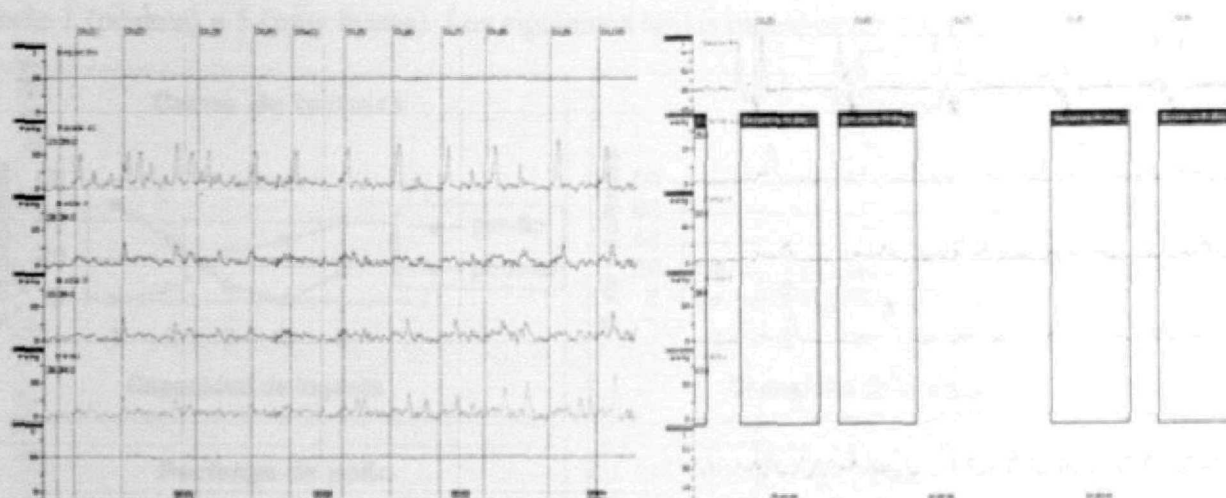


Figura 22. Evolución temporal del patrón manométrico del cuerpo esofágico (t de Student).



En los pacientes con registros hipocinéticos, se consideraron "ondas peristálticas" la suma de aquellas degluciones que generaron ondas de amplitud normal, ondas de baja amplitud y ondas de amplitud aumentada. Se consideraron "ondas no peristálticas" la suma de las degluciones seguidas por ondas simultáneas y las ondas no transmitidas. El análisis de estos datos mostraron en % una media de "ondas no peristálticas" del 46.67 % en el estudio basal. Tras el tratamiento esteroideo tópico la cuantificación de "ondas no peristálticas" para este mismo grupo de pacientes se redujo al 9.17 % (hasta un 10% de ondas no peristálticas se considera límite normal en un registro manométrico). Se demostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos porcentajes mediante una *t* de Student de 4.858 y  $p=0.005$ .



**Figura 23.** Trazados manométricos del paciente 10 obtenidos antes y después del tratamiento. El primer registro muestra un cuerpo esofágico aperistáltico, con escasas ondas simultáneas de muy baja amplitud. El segundo registro muestra ondas peristálticas de duración y amplitud normales.

En el grupo de pacientes con registros manométricos de tipo hipercinético se compararon la proporción de ondas de amplitud y/o duración aumentadas y las ondas normales antes y después del tratamiento. El resultado mostró una reducción de la proporción de ondas hipercinéticas de 66% a 58%, paralelamente a un aumento en la proporción de ondas normales de 34% a 42%, aunque no pudimos demostrar diferencias estadísticamente significativas entre estas proporciones.

## 7. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Las encuestas de síntomas clínicos pre y post-tratamiento de nuestros pacientes fueron analizadas mediante test de *t* de Student para muestras pareadas. Con el tratamiento

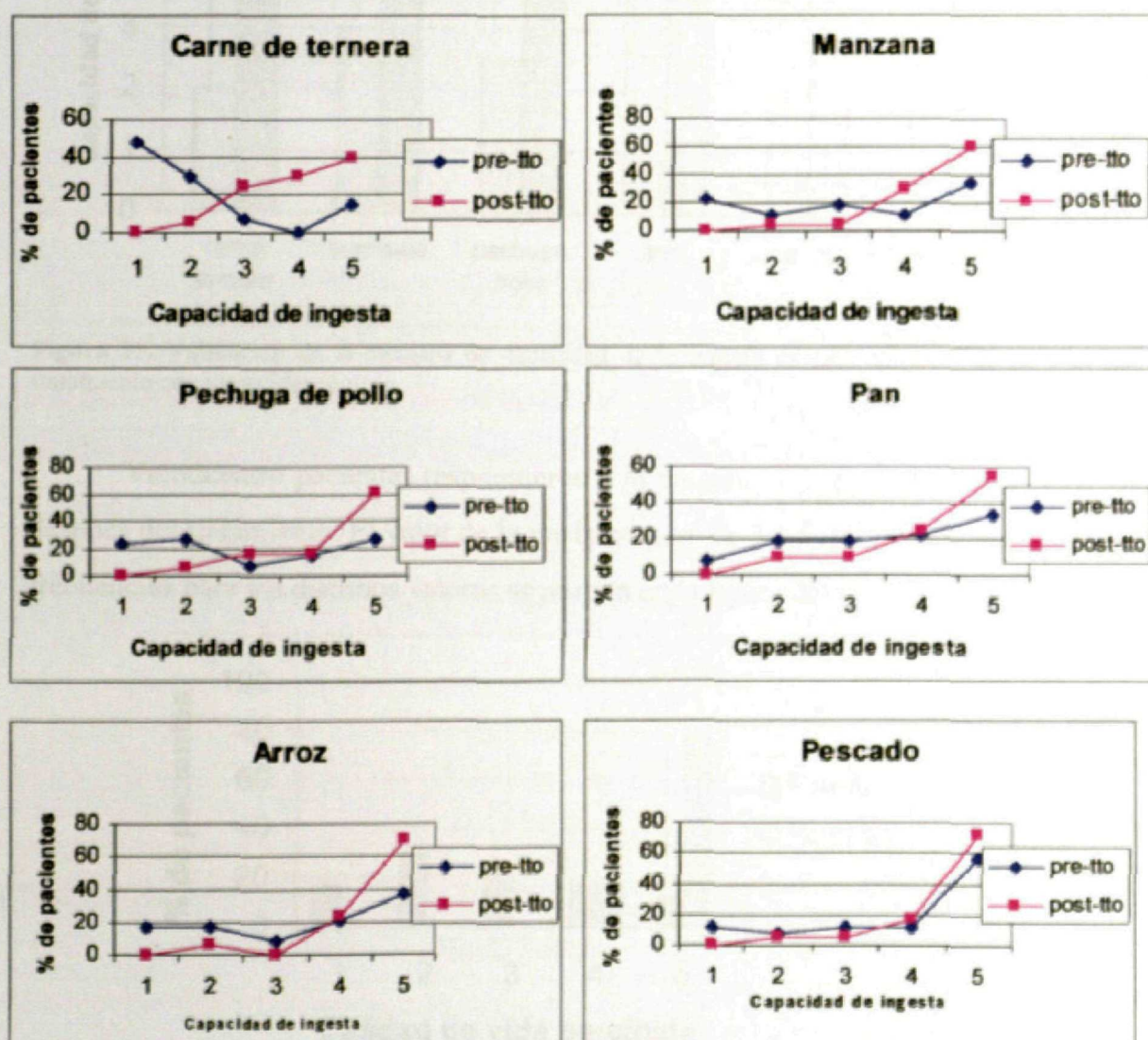


esteroideo tópico el número de episodios de atragantamiento autolimitados al mes se redujo de 12.23 (SD=18.81) a 0 ( $t=2.344$ ,  $p=0.037$ ). El número de episodios de regurgitación al mes se redujo de 3.85 (SD=5.68) a 1 (SD=3.32) ( $t=1.508$ ,  $p=0.157$ ).

El tiempo que los pacientes empleaban en la comida o en la cena pasó de una media de 41 minutos (SD=20.3) a una media de 27.5 minutos (SD=13.23) ( $t=3.79$ ,  $p=0.003$ ).

La cantidad de líquido ingerido durante la comida o la cena se redujo de 584.54 ml (SD 326.38) a 443.64 ml (SD 285.74) ( $t=1.878$ ,  $p=0.09$ ).

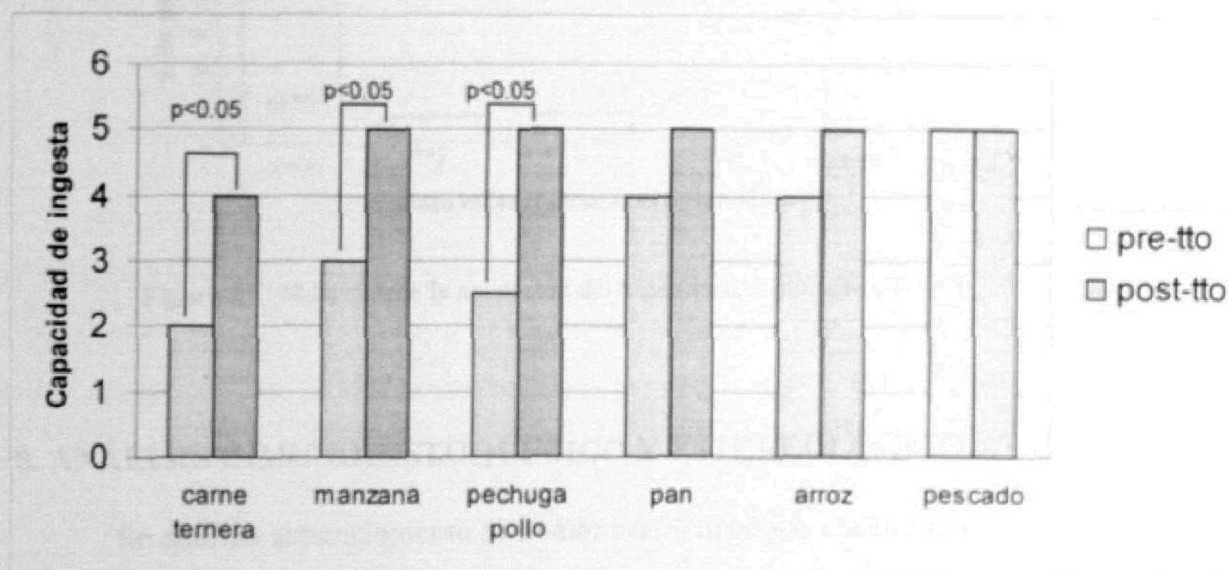
En cuanto a los diferentes tipos de alimentos para los que se interrogó a los pacientes, para todos ellos, existió una mejoría en la capacidad para ingerirlos, calificada desde 1 (pésima) a 5 (muy buena). Las siguientes tablas muestran este hecho.



**Figura 24.** Representación gráfica del efecto del tratamiento sobre la capacidad para ingerir distintos alimentos, evaluada por los propios pacientes con valores entre 1 (muy mala) y 5 (óptima).

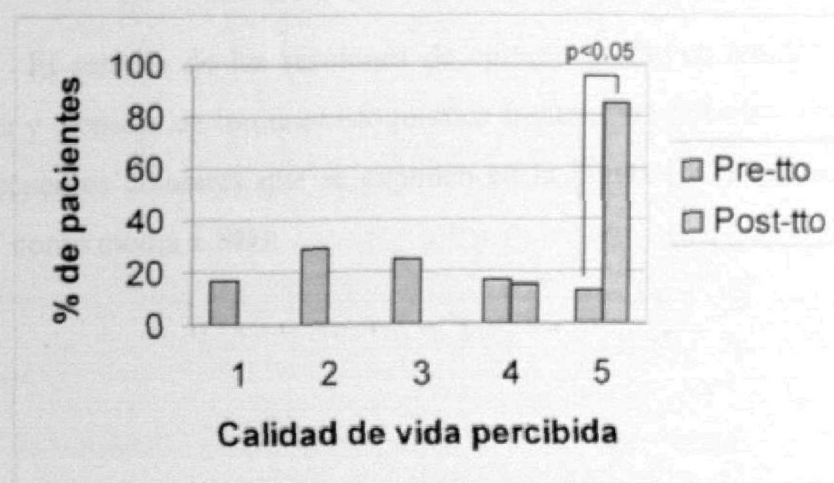
Cuando se compararon la suma de los porcentajes de pacientes que ingerían “bien” (4) y “muy bien” (5) los distintos alimentos evaluados tras el tratamiento, se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ) respecto a la suma de esos porcentajes antes del tratamiento.

Considerando la mediana de capacidad para ingerir los diferentes alimentos evaluados en los pacientes antes y después del tratamiento, también se objetivó una mejoría significativa en ciertos alimentos:



**Figura 25.** Valoración de la mediana de capacidad de la ingesta de cada alimento antes y después del tratamiento con esteroides tópicos.

Veinticuatro pacientes respondieron a la pregunta sobre su calidad de vida antes y después del tratamiento. El valor de la mediana pasó de 3 a 5 ( $p<0.05$ ), y la distribución de frecuencias para los distintos valores se muestra en la figura 26:



**Figura 26.** Representación del efecto del tratamiento sobre la calidad de vida de los pacientes.



Quince pacientes (50%) respondieron a la pregunta acerca de lo molesto que les resultaba la aplicación del tratamiento mediante el sistema de inhalación, su posterior deglución y los cuidados para la prevención de la micosis orofaríngea, mediante una puntuación de 5 (tremendamente molesto) a 1 (nada molesto). Las puntuaciones obtenidas se resumen en la Figura 27:

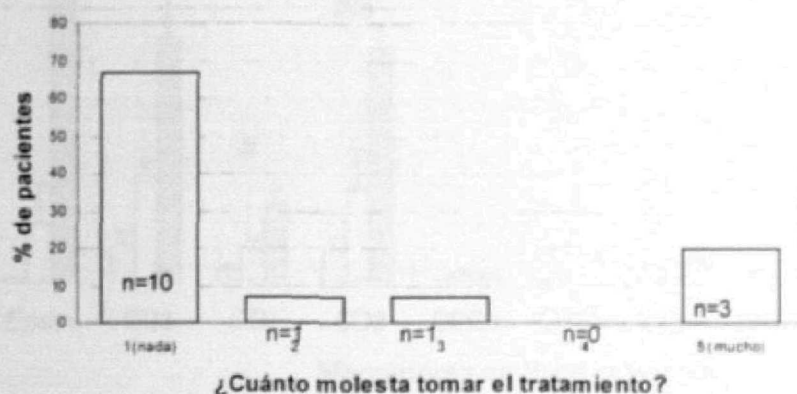


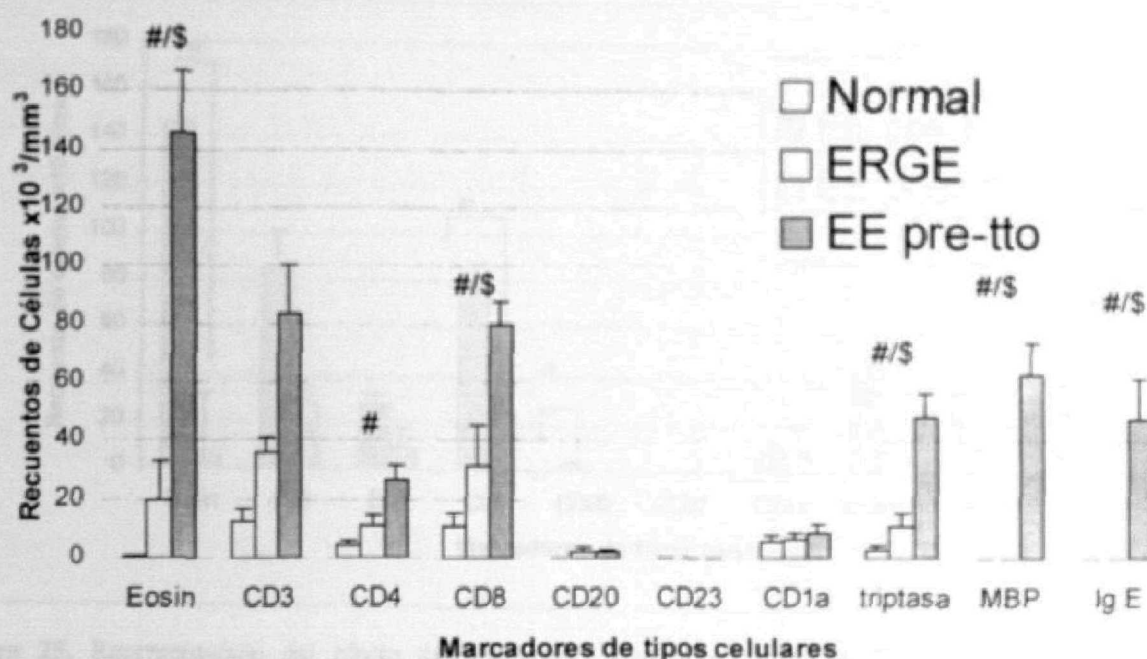
Figura 27. Molestias de la aplicación del tratamiento, valoradas de 1 a 5.

## 8. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO Y ESTEREOLÓGICO.

Se analizó separadamente el número de leucocitos eosinófilos por  $\text{mm}^3$  de epitelio esofágico presentes en los tercios superior e inferior de nuestros pacientes antes del tratamiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas el recuento entre ambas localizaciones, por lo que todos los estudios histológicos posteriores se realizaron únicamente sobre muestras de biopsia obtenidas en tercios superior del esófago de los pacientes.

El estudio de las secciones de epitelio esofágico teñidas mediante hematoxilina-eosina y técnicas de inmunohistoquímica frente a los distintos antígenos ensayados reveló los recuentos celulares que se exponen en la Figura 28 (expresados en miles de células  $/\text{mm}^3$  como media  $\pm$  SD):

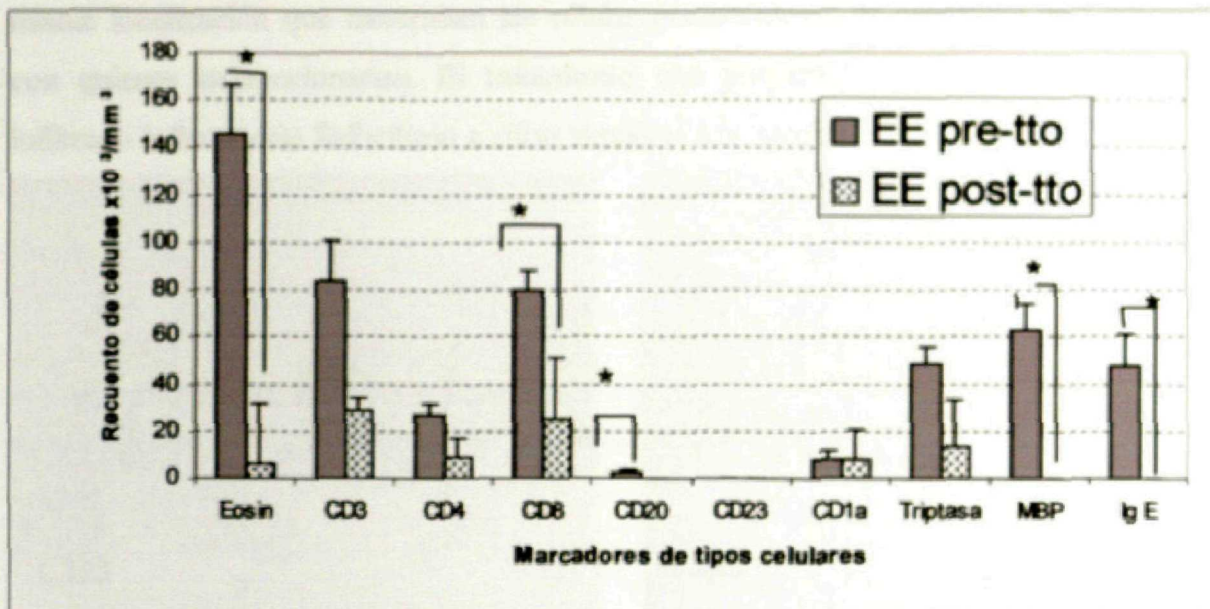




**Figura 28.** Cuantificación de la densidad de distintos elementos celulares en muestras de epitelio del tercio superior esofágico, y su representación comparativa para las 3 condiciones ensayadas (esófago normal, ERGE, EE), expresadas como media  $\pm$  DE. Se expresan las diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) en los recuentos entre EE y controles normales (#) y entre EE y ERGE (\$).

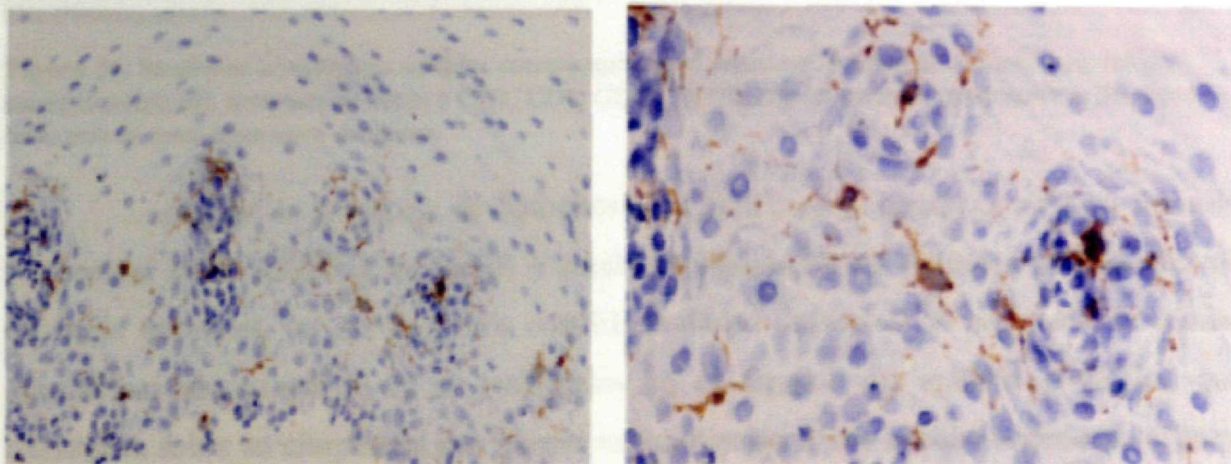
Las diferencias en el número de células/mm<sup>3</sup> en cada una de las circunstancias estudiadas (esófagos normales, ERGE, EE) se analizaron mediante regresión lineal. No pudimos demostrar diferencias significativas entre los pacientes del grupo de ERGE y aquellos con esófagos normales, tal vez debido al escaso tamaño de la muestra (7 pacientes en cada grupo). Sin embargo, las diferencias estadísticamente significativas entre los casos de EE y los controles con esófago normal (#) y entre los casos de EE y los de ERGE (\$) se exponen en la figura.

Se evaluó igualmente el efecto del tratamiento con propionato de fluticasona tópico en el infiltrado celular epitelial esofágico cuantificado mediante estereología. Los resultados para los distintos pacientes analizados como datos pareados se exponen en la Figura 29 y muestran una llamativa reducción de la densidad media de elementos celulares que infiltraba el tejido epitelial esofágico, de modo que, tras el tratamiento, los pacientes alcanzaron densidades celulares similares a las propias de la ERGE, con significación estadística en varios casos:



**Figura 29.** Representación del efecto del tratamiento esteroideo tópico en la resolución del infiltrado inflamatorio esofágico. Datos expresados como media  $\pm$  DE. \*= $p < 0.05$ .

De estos datos podemos concluir que el esófago posee en condiciones normales células dendríticas de Langerhans, con capacidad para el procesamiento y la presentación de antígenos, con una densidad en condiciones normales de en torno a unas 8.000 células/mm<sup>3</sup> de tejido, que se mantiene estable en la ERGE y en la EE (Figura 30). Topográficamente, sus núcleos se sitúan en los estratos medios y profundos del epitelio.

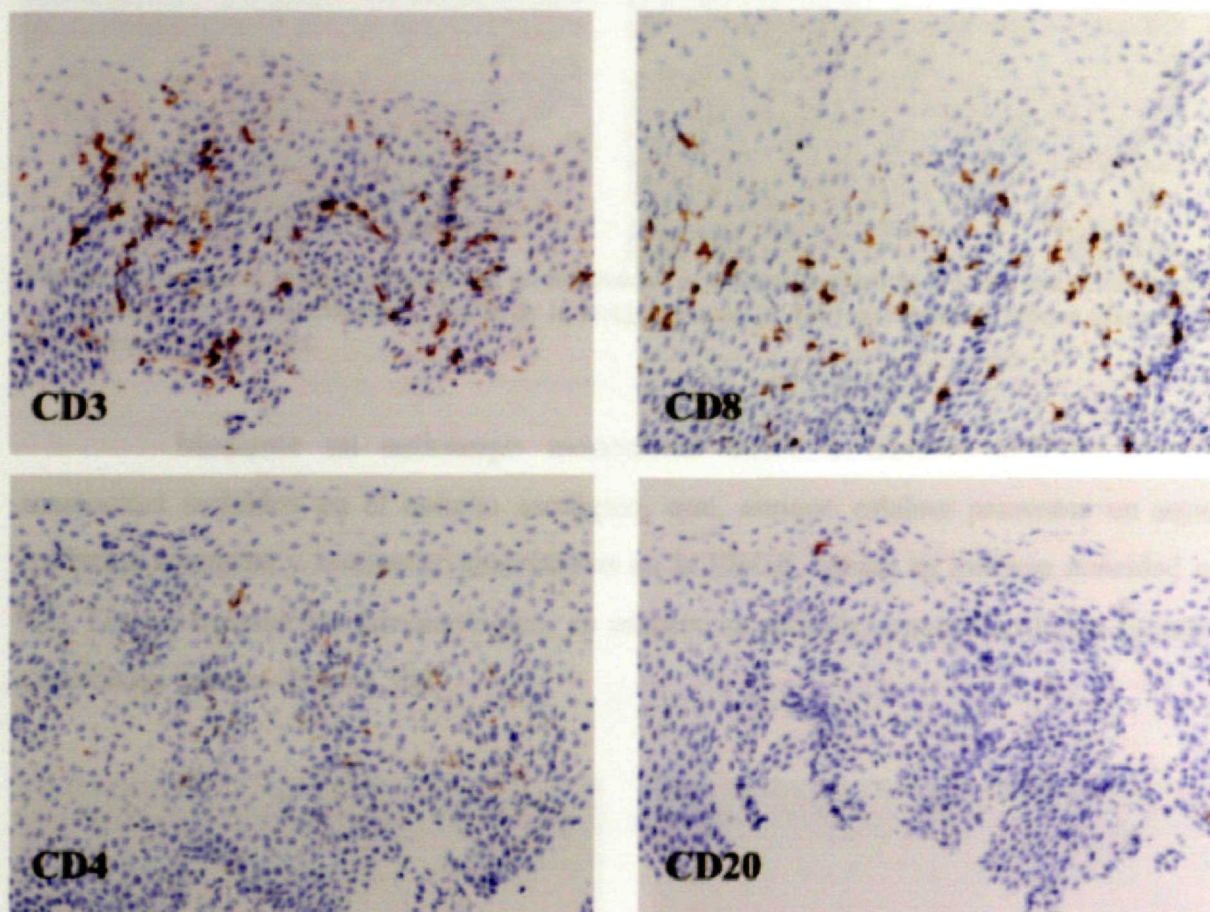


**Figura 30.** Inmunohistoquímica frente a CD1a, que (a la izquierda) muestra la localización topográfica de las células de Langerhans en el epitelio esofágico (immunoperoxidasa x 200). A la derecha, detalle de la imagen anterior (x 400) para apreciar la morfología dendrítica de estas células y sus prolongaciones citoplasmáticas.

Nuestros análisis muestran que en la EE acontece un marcado incremento en el número de linfocitos T intraepiteliales, que multiplican su número unas 5 veces, y entre ellos más de 3 cuartas partes corresponden a linfocitos T CD8<sup>+</sup> (Figura 31). Dichos linfocitos se localizaban preferentemente en los estratos medio y profundo del epitelio, la



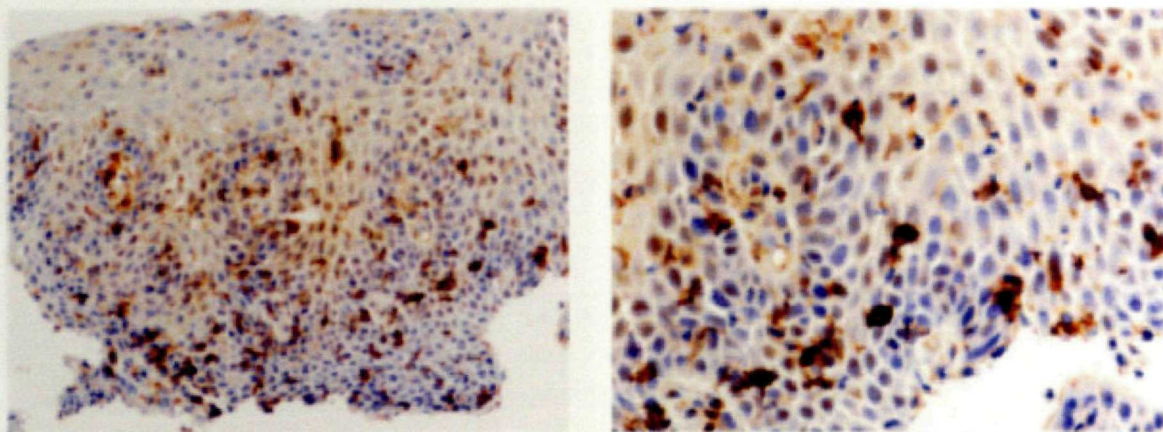
misma localización que mostraban las células presentadoras de antígenos de Langerhans, con quienes interaccionarían. El tratamiento con propionato de fluticasona restaura el infiltrado inflamatorio linfocitario a cifras similares a la basales.



**Figura 31.** Secciones histológicas seriadas correspondientes al paciente 29 antes del tratamiento, teñidas sucesivamente con anticuerpos frente a CD3, CD8, CD4 y CD20. Apréciase respectivamente la densidad de cada uno de estos elementos celulares.

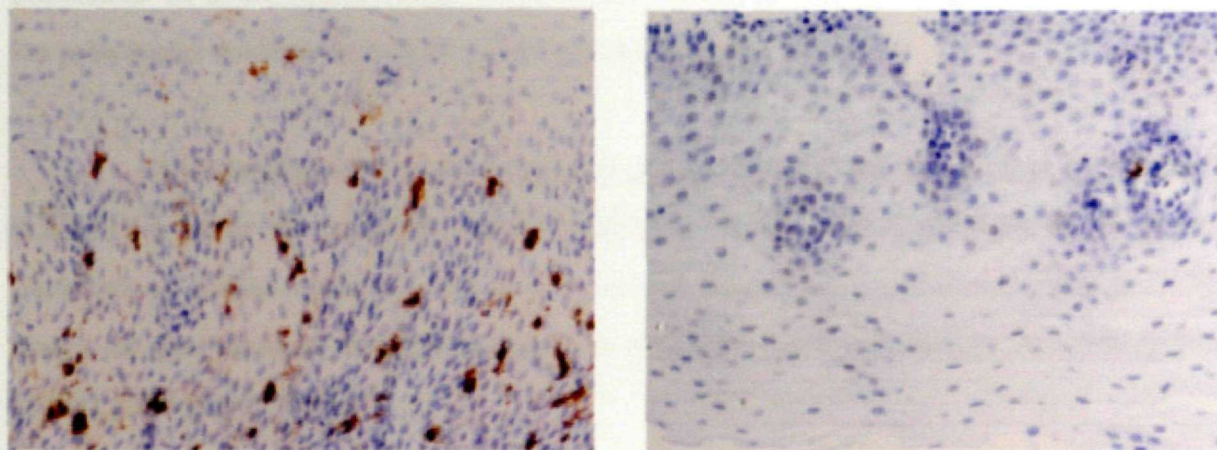
Aunque la presencia de linfocitos B ( $CD20^+$ ) en el epitelio esofágico fue sólo testimonial en la ERGE y en la EE y estaban ausentes en las muestras procedentes de esófagos normales, en los pacientes con EE pudimos demostrar la presencia de células plasmáticas secretoras de Ig E localizadas en el espesor del epitelio esofágico, que mostraban sobre su citoplasma una intensa inmunotinción frente a dicho anticuerpo (Figura 32). Este hecho indicaría producción intraepitelial de esta inmunoglobulina, que desapareció tras el tratamiento esteroideo y no existía en los controles utilizados.





**Figura 32.** Izquierda: Inmunotinción con un anticuerpo policlonal frente a Ig E sobre una muestra epitelial del paciente 29 (x200). Derecha: Detalle de la imagen previa (x 400) que muestra células plasmáticas de distribución intraepitelial.

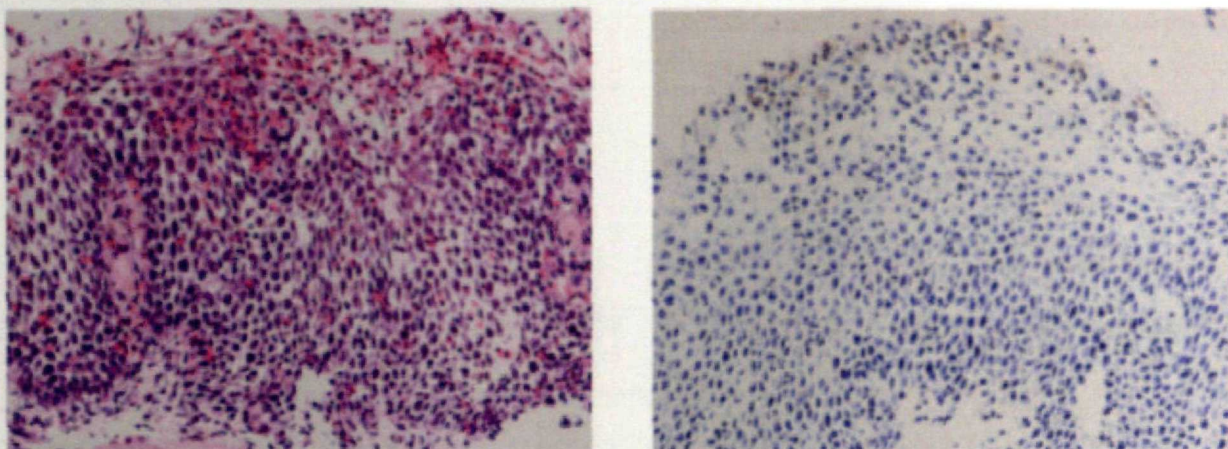
Mediante un anticuerpo monoclonal frente a triptasa pudimos identificar mastocitos incluidos en el epitelio esofágico, que, aunque estaban presentes en aquellas muestras normales y levemente aumentados en la ERGE, tenían su máxima densidad en la EE. Tras el tratamiento farmacológico, su número se reducía, aunque no hasta situarse en densidades basales (Figura 33).



**Figura 33.** Inmunotinción frente a Triptasa del epitelio del tercio superior del paciente 17 antes (izquierda) y después (derecha) del tratamiento esteroideo tópico (Inmunoperoxidasa x 200).

Por último, realizamos una tinción de nuestras muestras con un anticuerpo monoclonal frente a proteína mayor básica del eosinófilo, un marcador de la activación de este leucocito. Encontramos que sólo resultaba positiva en los pacientes con EE previamente al tratamiento, aunque la densidad de eosinófilos activados era menor que la obtenida en los recuentos sobre H&E. Las células positivas se localizaron preferentemente en los estratos más superficiales del epitelio, y se agregaban tendiendo a reproducir microabscesos (Figura 34).





**Figura 34.** Preparaciones histológicas del caso 1 (x200): A la izquierda, tinción con H-E que muestra eosinófilos permeando el epitelio, más densamente localizados en los estratos superficiales. A la derecha, inmunotinción frente a MBP en la que los eosinófilos activados se localizan preferentemente en las porciones más superficiales del epitelio.

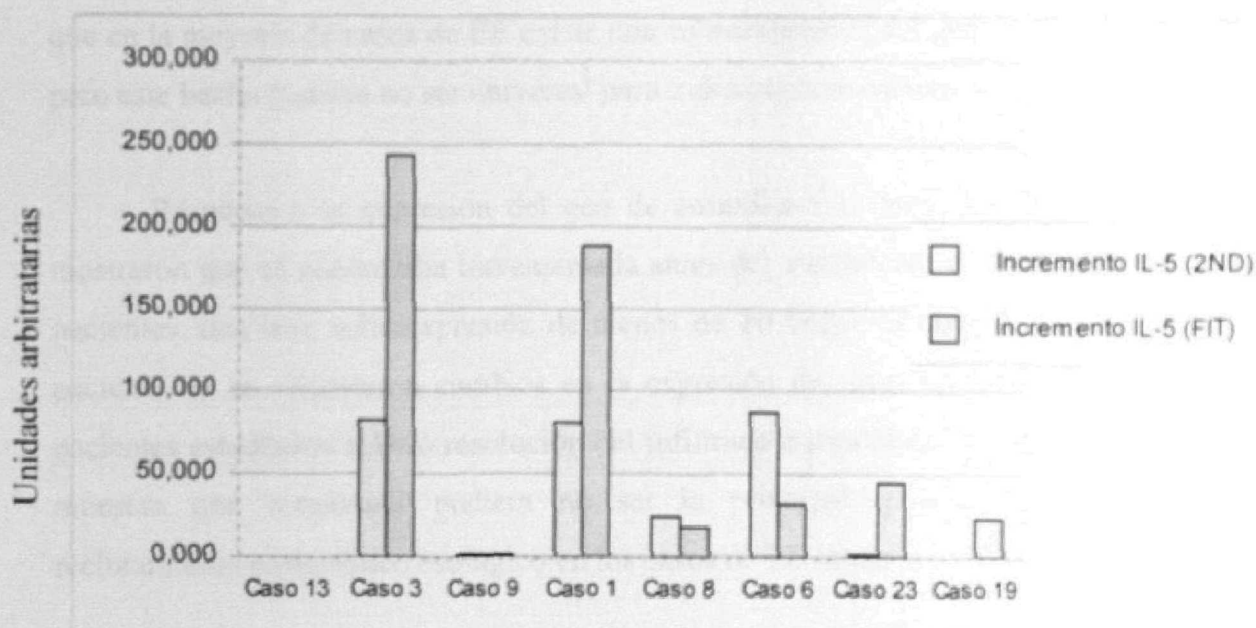
## 9. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE IL-5 Y EOTAXINA-1.

En un grupo de 8 pacientes se realizó una cuantificación de la expresión génica de IL-5 y eotaxina-1 (CCL11), antes y después del tratamiento. Ambas citocinas han sido implicadas en la patología molecular de la EE en modelos murinos de la enfermedad como los principales determinantes de la infiltración eosinofílica esofágica.

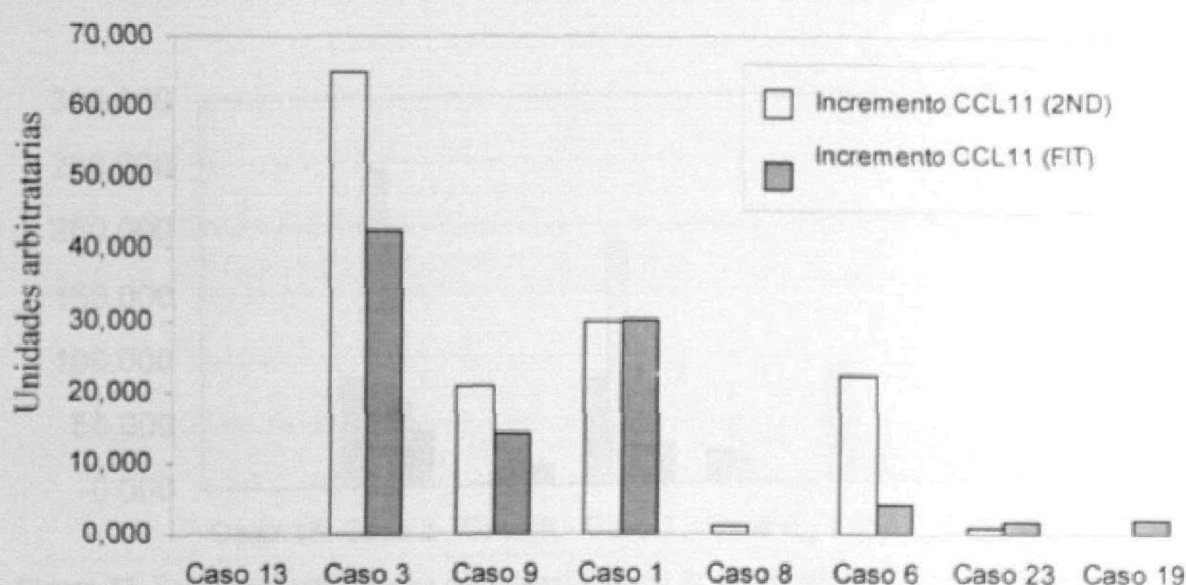
La cuantificación de la expresión génica del ARNm de IL-5 y de eotaxina-1 (CCL11) a partir de muestras obtenidas antes y después del tratamiento 8 de nuestros pacientes se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (q-PCR) a través de dos técnicas distintas basadas en detección de fluorescencia: Segunda derivada (2ND) y *Fit-points* (FIT).

En el estudio molecular de la expresión de los genes codificantes de IL-5 y eotaxina-1 (CCL11) se obtuvieron los resultados que se expresan en las Figuras 35 a 37. En ellas se muestra el incremento en la expresión de los genes previo al tratamiento, respecto a la expresión de los mismos durante la fase de inflamación (datos corregidos por la expresión del gen constitutivo de  $\beta_2$ -microglobulina). Como ejemplo, para el caso 3 se detectó que previo al tratamiento, el gen de IL-5 se encontraba sobreexpresado entre 80 y 240 veces con respecto a la expresión post-tratamiento.





**Figura 35.** Incremento de la expresión previa al tratamiento de IL-5 respecto a la expresión post-tratamiento (línea de base), cuantificada mediante dos técnicas.



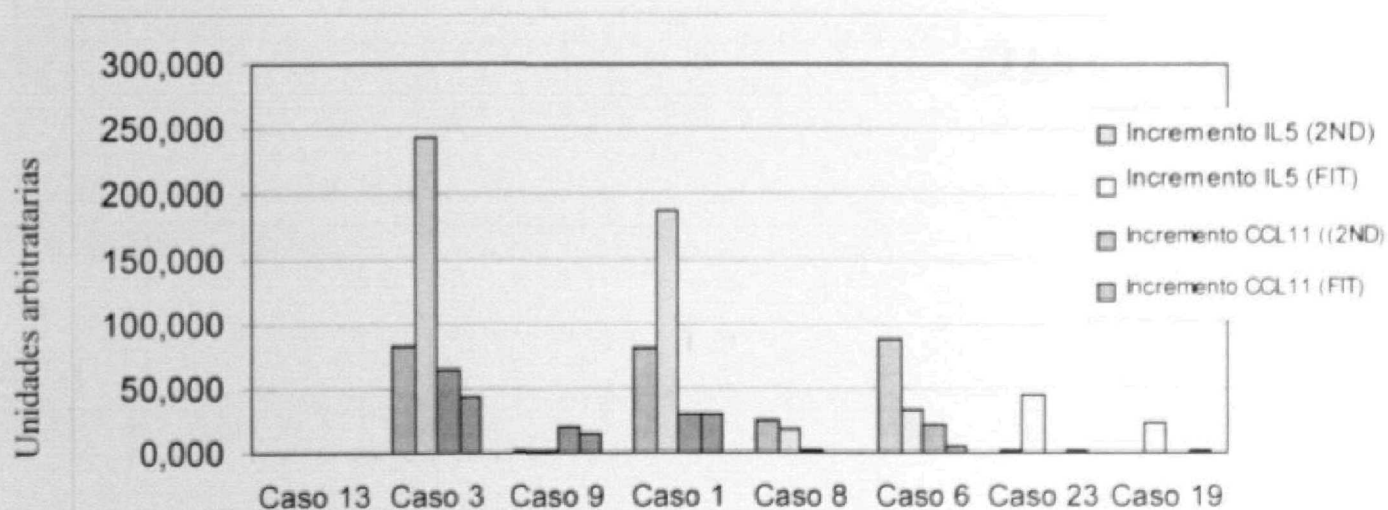
**Figura 36.** Incremento de la expresión previa al tratamiento de Eotaxina-I (CCL11) respecto a la expresión post-tratamiento (línea de base), cuantificada mediante dos técnicas.

Como se puede apreciar en la Figura 35, la expresión de **IL-5** se encontraba incrementada antes del tratamiento de un modo variable en 6 de nuestros pacientes, y no mostró cambios en otros 2, pese a que en todos los casos estudiados se comprobó la resolución histológica de las lesiones y del infiltrado eosinofílico. Los resultados apuntan a

que en la mayoría de casos de EE existe una sobreexpresión del gen codificante para IL-5, pero este hecho pudiera no ser universal para todos nuestros pacientes.

Respecto a la expresión del gen de **eotaxina-1** (Figura 36), nuestros resultados mostraron que se encontraba incrementada antes del tratamiento en más de 20 veces en 4 pacientes, una leve sobreexpresión de menos de 10 veces en otros 3, mientras que en 1 paciente no se observaron cambios en la expresión del gen. En tanto que en todos los pacientes estudiados existió resolución del infiltrado eosinofílico intraepitelial, estos datos muestran que eotaxina-1 pudiera no ser la principal quimiocina implicada en el reclutamiento eosinofílico esofágico en los casos de EE humana.

La observación conjunta de las 2 gráficas que se muestra en la Figura 37 sugiere que la expresión de los 2 genes analizados y el efecto de los productos de su transcripción sobre la fisiopatología de la EE se produce de modo independiente y, probablemente obedece a mecanismos reguladores distintos.



**Figura 37.** Representación conjunta de la cuantificación de la sobreexpresión pretratamiento de los genes de IL-5 y eotaxina-1 (CCL11) en el epitelio de pacientes con EE.



El estudio se realizó en 1997 en una escuela de la zona rural de la ciudad de Bogotá, donde se encontraron 100 niños de 10 años de edad, que fueron seleccionados al azar para ser entrevistados. El estudio se realizó en un aula de la escuela.

Después de haber leído y discutido el protocolo de investigación con los niños, se les explicó el propósito del estudio y se les aseguró que su participación era voluntaria y que no recibirían ninguna recompensa por ello. Se les explicó también que su participación era confidencial y que sus respuestas serían tratadas como tales. Después de haber leído y discutido el protocolo de investigación con los niños, se les explicó el propósito del estudio y se les aseguró que su participación era voluntaria y que no recibirían ninguna recompensa por ello. Se les explicó también que su participación era confidencial y que sus respuestas serían tratadas como tales.

## DISCUSIÓN

Según el estudio, el 100% de los niños de 10 años de edad, que fueron seleccionados al azar para ser entrevistados, afirmaron que su participación era voluntaria y que no recibirían ninguna recompensa por ello. Se les explicó también que su participación era confidencial y que sus respuestas serían tratadas como tales.

El estudio se realizó en 1997 en una escuela de la zona rural de la ciudad de Bogotá, donde se encontraron 100 niños de 10 años de edad, que fueron seleccionados al azar para ser entrevistados. El estudio se realizó en un aula de la escuela.

## 1. EPIDEMIOLOGÍA.

La esofagitis eosinofílica (EE) es una entidad claramente emergente. Hasta la fecha, en torno a 140 artículos han documentado diferentes casos de esofagitis eosinofílica tanto en niños como en pacientes adultos. De ellos, el 75% han sido publicados durante los últimos 5 años.

Según los archivos informáticos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario La Paz en el año 2001 comienzan a diagnosticarse los primeros casos de EE en niños. Desde entonces, el número de pacientes ha ido en crecimiento exponencial, tanto en niños como en adultos<sup>58</sup>. La razón para este aumento es doble. Por un lado, un aumento en la incidencia y en la prevalencia del trastorno, que responde posiblemente a las mismas causas que han hecho aumentar en las últimas décadas las enfermedades alérgicas en general y las manifestaciones de atopia entre los habitantes de los países industrializados<sup>121,122</sup>. Por otro lado, un conocimiento de la existencia de este trastorno entre los clínicos, que lo empiezan a considerar entre los diagnósticos diferenciales de la disfagia y de las estenosis esofágicas, y por supuesto, el conocimiento de esta entidad por el patólogo, que es la pieza clave en el proceso diagnóstico de la EE<sup>123</sup>.

Respecto a la epidemiología de la EE, actualmente no disponemos de datos fiables para estimar la incidencia y la prevalencia reales de la enfermedad, a causa de que la mayoría de los casos existentes no son considerados como probables diagnósticos de EE, en gran medida por el amplio desconocimiento que existe entre los médicos sobre esta novedosa enfermedad. La EE es una entidad claramente emergente, tal y como documentan las series y los casos recientemente descritos en España<sup>58,77,124,125</sup>, Suiza<sup>115</sup>, Dinamarca<sup>126</sup>, Australia<sup>68,127</sup>, Italia<sup>128</sup>, Japón<sup>101,129</sup>, Inglaterra y Estados Unidos<sup>59,72,82,130</sup>. De forma paralela, todos estos países industrializados también han mostrado un claro aumento en el diagnóstico de todo tipo de manifestaciones atópicas a lo largo de los últimos años.

Straumann estimó a partir de su serie de casos en suizos adultos recogidos durante 16 años<sup>115,131,132</sup> unas cifras de incidencia anual de 1.438 casos por 100.000 habitantes, con un incremento en el caso de nuevos diagnósticos en los últimos años, y una prevalencia de 23 casos/100.000 habitantes. Noel *et al*<sup>133</sup> estimaron la epidemiología de la



EE en la población pediátrica residente en una región de Ohio (EE.UU.); a partir de sus registros estimaron una incidencia anual de 10 casos infantiles por 100.000 habitantes y una prevalencia de 43 casos por 100.000 habitantes al final del año 2003.

En el caso de nuestro Hospital y para la población por él atendida hemos calculado una incidencia anual media de 1.8 casos/100.000 habitantes y de prevalencia acumulada para la EE de 7.2 casos por 100.000 habitantes al final de 2005. Nuestra cifra de incidencia anual media es sensiblemente menor a la ofrecida por Noel *et al* y ligeramente más alta que la ofrecida por Straumann. Sin embargo, la baja prevalencia global acumulada en el área Sanitaria V de Madrid de tan solo 7.2 casos/100.000 habitantes, responde únicamente a que, a diferencia de los otros autores, nuestros registros de casos de EE sólo abarcan un corto periodo de 4 años.

De la revisión de la literatura se desprende que la mayoría de los casos de EE eosinofílica acontece en niños; según una amplia revisión de casos <sup>40</sup>, en la infancia se presentaron más del 65% del total de diagnósticos de la enfermedad. Además, la gran mayoría de los pacientes descritos en todas las series, incluida la nuestra, son varones. Considerando sólo las formas descritas en adultos, las 4 series publicadas hasta la fecha con mayor número de casos describen edades medias de diagnóstico de 34.3 años <sup>115</sup>, 34 años <sup>127</sup>, 36 años <sup>68</sup> y 42 años <sup>59</sup>, datos concordantes con la edad media de nuestros pacientes en el momento del diagnóstico, que fue de 36.2 años. Sin embargo, y si prestamos atención a todos los casos de EE descritos en la literatura desde las primeras publicaciones, cada vez son más frecuentes los diagnósticos realizados en la edad adulta, y en los últimos años existe una ligera tendencia al incremento en la edad de estos pacientes. Sin embargo, esta observación debe tomarse con cautela por el ya mencionado sesgo diagnóstico que seguramente existe para la EE, donde probablemente las cifras de incidencia y prevalencia reales son superiores a las disponibles.

Los datos epidemiológicos disponibles indican que la incidencia de EE en los países industrializados pudiera ser, al menos, tan alta como la de otras entidades inflamatorias del tubo digestivo bien reconocidas, como la enfermedad de Crohn (cuya incidencia en EE.UU. oscila entre 3.6 y 8.8 casos anuales/100.000 habitantes <sup>134,135</sup>). Todos estos datos sugieren que, aunque la EE ha sido considerada hasta hace muy poco tiempo una enfermedad extremadamente rara, especialmente en su manifestación en la

edad adulta, su frecuencia real es mucho más elevada de la esperada a priori y podría superar la de otras enfermedades inflamatorias crónicas del tubo digestivo. Además, atendiendo al aumento progresivo que ha experimentado la incidencia de la EE, es previsible que en los próximos años los casos diagnosticados sigan creciendo, aún cuando por el desconocimiento amplio que existe de esta entidad entre los médicos, siga siendo una entidad infradiagnosticada y sólo estemos observando "la punta del iceberg".

Algunos de nuestros pacientes diagnosticados de EE presentaban síntomas esofágicos de muy larga evolución, que venían padeciendo desde su edad infantil (hasta de 32 años). Sin embargo, la mayoría de nuestra serie está constituida por pacientes con un curso clínico limitado, y una duración media de los síntomas de unos 95 meses. En función de estos datos podemos establecer 2 grandes grupos de pacientes adultos con EE: por una parte, aquellos con síntomas iniciados en la infancia y que constituyen formas de diagnóstico tardío de la enfermedad, y por otra parte, aquellos casos en los que el diagnóstico en la edad adulta constituye una nueva entidad <sup>136</sup>.

Pero probablemente la clasificación de la enfermedad en forma infantil y forma del adulto sea una división artificial. En nuestra opinión, la esofagitis alérgica o eosinofílica constituye una única entidad independientemente de la edad de presentación, y esto pese a que, como veremos más adelante, las manifestaciones clínicas y los trastornos manométricos asociados a la enfermedad presentan diferencias relacionadas con la edad de aparición.

En todas las edades la enfermedad afecta mayoritariamente a individuos del sexo masculino, y en todas las series comunicadas, incluida la nuestra, existe una fuerte asociación con enfermedades atópicas tanto en los propios pacientes como en sus familiares. Estos datos sugieren fuertemente que, además de los factores de riesgo bien establecidos de tipo ambiental, en el desarrollo de la EE se implican factores genéticos que determinan una posible predisposición dependiente del sexo para padecer la enfermedad. Aunque no se han establecido asociaciones precisas, podría existir una relación con los genes y las regiones cromosómicas que han sido relacionadas con el desarrollo de atopia <sup>137,138</sup>. Al igual que ocurre en el asma, donde una historia familiar (especialmente materna) es un factor de riesgo reconocido para el desarrollo de la enfermedad <sup>139</sup>, también en la EE existen datos a favor de una posible herencia familiar para estos genes, al existir casos



descritos dentro de la misma familia: Dos de los pacientes de nuestra serie son hermanos, pero la literatura describe también los casos de 1 padre y sus dos hijos (varón y mujer) afectados por la enfermedad <sup>140</sup>, el de tres hermanos varones <sup>141</sup> y el de un padre y su hija <sup>142</sup>.

Aunque son minoritarios, existen también casos de pacientes con diagnóstico de esofagitis eosinofílica en los que no se objetivó ninguna otra manifestación atópica asociada. Tres de nuestros pacientes con diagnóstico histológico de EE y respuesta clínica e histológica a la administración de propionato de fluticasona carecían de antecedentes personales y familiares de alergia, y no pudo ser demostrada otra forma de hipersensibilidad en los test alergológicos realizados.

La explicación de este hecho sugiere que tal vez la forma de herencia que predispone a la EE pudiera ser independiente de la que predispone a otras manifestaciones atópicas. Algún autor ya ha advertido la diferente distribución geográfica del asma alérgico y de la EE <sup>104</sup>, argumentando que la exposición a alérgenos no es por sí misma el único factor que determina la génesis de este trastorno. Sin embargo, la distribución geográfica real de la EE aún no es bien conocida.

Pese a que existen datos que sugieren una asociación entre la EE con ciertas formas de herencia, hasta la fecha no ha sido realizado ningún estudio para definir las características genéticas de los pacientes que les puedan predisponer a presentar la enfermedad o si existe alguna asociación con determinados haplotipos del HLA, como si parece existir en otras formas de alergia <sup>137,138</sup>.

## 2. ENDOSCOPIA.

El aumento en el número de casos diagnosticados de EE refuerza la importancia del examen endoscópico. Las ondulaciones o las irregularidades de la mucosa y los surcos longitudinales son hallazgos endoscópicos bien identificados y casi constantes en estos pacientes, pero las posibles lesiones mucosas son muy variadas. En general responden a cambios sutiles que al explorador no habituado a estas alteraciones o que no considera la posibilidad de diagnóstico de EE en el paciente al que realiza la exploración, pueden pasarle inadvertidas.

Por este motivo, ante un paciente con sospecha de EE la exploración endoscópica correcta debe realizarse bajo distensión del órgano y también con el esófago parcialmente colapsado, lo que aumentaría la sensibilidad del estudio. Algunos autores han sugerido incluso la utilidad de los métodos de tinción con colorantes vitales aplicados con un spray de contraste o cromoendoscopia para evidenciar estas lesiones que ocasionalmente son poco aparentes <sup>59</sup>.

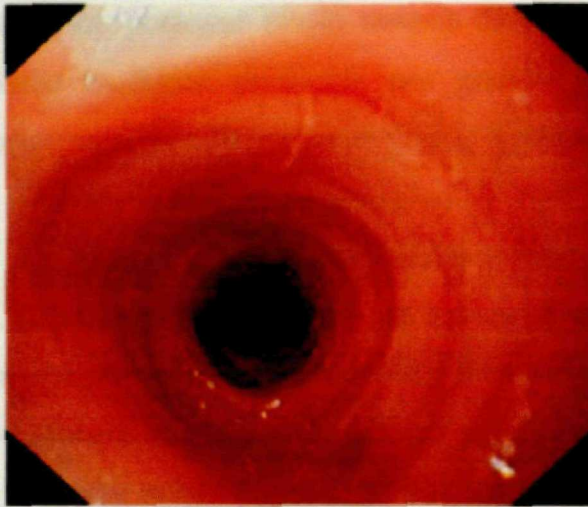
De la revisión de la literatura y del estudio de nuestros casos se desprende que la esofagitis eosinofílica es una entidad polimorfa desde el punto de vista endoscópico <sup>143</sup>. Una revisión amplia y detallada del aspecto endoscópico que presentaban los pacientes afectos de EE <sup>132</sup> llegaba incluso a la afirmación de que hasta el 100% de los casos explorados mostraban algún tipo de anomalía en la mucosa del esófago, la más frecuente de ellas una inaparente pérdida del patrón vascular normal, dato impreciso como para poder ser rutinariamente tenido en cuenta. Los hallazgos que nuestros pacientes muestran en las descripciones endoscópicas iniciales y también en las sucesivas exploraciones a las que se han sometido son muy variados, y la mayor parte de ellos corresponden a hallazgos clásicamente descritos.

Atendiendo a estos hallazgos endoscópicos, hay dos aspectos diferentes obtenidos de nuestra experiencia que, en principio, son independientes en su aparición en los diferentes pacientes. Constituyen signos endoscópicos que nos permitirían establecer una clasificación y estadificación de las lesiones endoscópicas en la EE: Por una parte, las alteraciones del calibre del esófago. Por la otra, las lesiones mucosas o las alteraciones en el patrón mucoso del órgano.

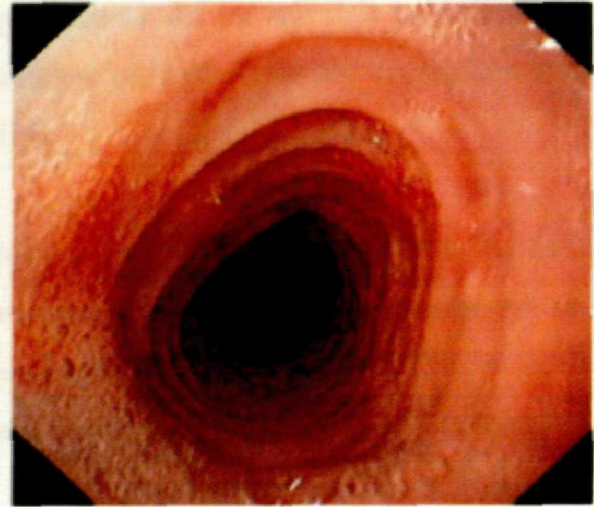
**1. Las alteraciones en el calibre de la luz esofágica** se manifiestan por la existencia de estenosis regulares concéntricas que impiden la observación de la luz distal y el avance del endoscopio (20%) (Figura 38), o por la presencia de anillos segmentarios simultáneos a lo largo del esófago (56.7% de nuestra serie) (Figura 39), que permiten valorar las características de la mucosa esofágica a su través. No es infrecuente que nuestros pacientes presenten esófagos de calibre normal (23.3%), con independencia, como hemos advertido, de la existencia de alteraciones en la mucosa, todo ello a pesar de la presencia de disfagia o de impactación de alimento en el esófago.



Estas alteraciones en el calibre del órgano son variables a lo largo del tiempo para un mismo paciente, incluso en ausencia de tratamiento específico, por lo que no responden en principio, a lesiones orgánicas, y podrían ser justificadas por el trastorno en la función de la capa muscular esofágica, demostrable mediante manometría.



**Figura 38.** Estenosis regular concéntrica sobre mucosa de aspecto normal que impide la observación de la mucosa distal a la misma.



**Figura 39.** Esófago reducido de calibre que muestra anillos de contracción simultánea, que permiten la observación de la mucosa, aunque ocasionalmente pudieran impedir el avance del instrumento.

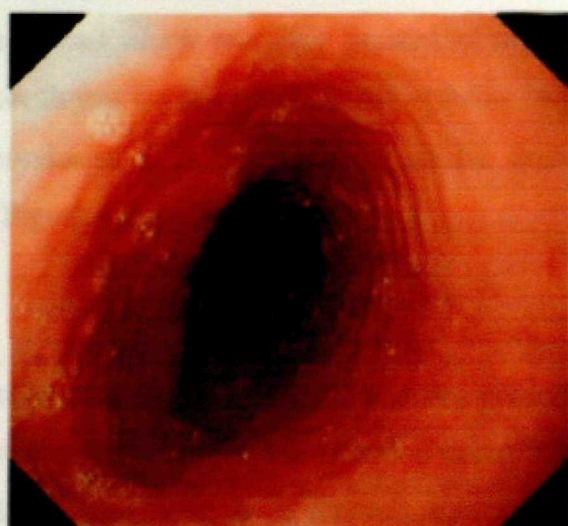
**2. Las alteraciones en el patrón mucoso esofágico** que muestran nuestros pacientes con EE son muy diversas. Muchas de ellas habían sido previamente descritas en la literatura, al igual que otras que no hemos observado en nuestra serie. Las dos alteraciones más frecuentemente observadas en la endoscopia son la presencia de una mucosa de aspecto irregular, con sobreelevaciones papulares más o menos circunscritas (20%) y la existencia de surcos lineales longitudinales que se extienden a lo largo del órgano y que asientan sobre los pliegues del esófago cuando éste se encuentra colapsado. Este tipo de surcos, denominado también “corrugación” esofágica, se presentaba hasta en el 97% de los pacientes descritos en una serie australiana <sup>127</sup> y aparecía en el 33.3% de nuestros pacientes. Debido a su frecuencia de presentación y a la facilidad para su identificación, los surcos lineales longitudinales podrían constituir un buen marcador para el diagnóstico de la EE, aunque nunca patognomónico. También pudimos observar una mucosa de aspecto ondulado. En un número amplio de pacientes (16,6%) se identificaron formaciones blanquecinas milimétricas o exudados fibrinoides más amplios que asemejaban lesiones de candidiasis esofágica, pero que la biopsia tipificó como acúmulos de eosinófilos formando microabscesos. Sin embargo, alguna de las series define estas lesiones hasta en más de la mitad de los pacientes explorados <sup>132</sup>. Aunque el riesgo de



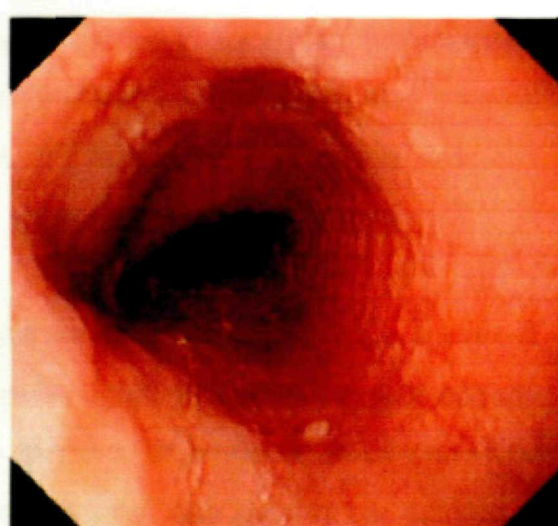
presentar candidiasis teóricamente pudiera estar incrementado en estos pacientes debido a la dismotilidad del órgano y al subsiguiente defecto de aclaramiento, en ninguno de ellos el examen histopatológico reveló la infección. La endoscopia inicial mostró en menor número de pacientes la existencia de una esofagitis aguda con exudados fibrinosos que el examen histológico posterior reveló tratarse de un despegamiento del estrato más superficial del epitelio esofágico producido por grandes acúmulos intraepiteliales de eosinófilos que mostraron activación mediante tinción frente a MPB.

Aunque variadas, las posibles lesiones mucosas apreciadas en la endoscopia, tanto de nuestros pacientes como de los casos comunicados en la literatura, constituyen un conjunto reducido a 4 patrones bien diferenciados (Figura 40):

- a) Mucosa con sobre-elevaciones papulares más o menos definidas, que le confieren un aspecto irregular.
- b) Surcos lineales longitudinales (corrugación esofágica), que se extienden a lo largo del esófago, y que pueden corresponder a las líneas de plegamiento del mismo, remarcadas por el edema mucoso.
- c) Mucosa de aspecto ondulado, que expresaría el efecto de la *muscularis mucosae* sobre una capa mucosa del órgano con edema.
- d) Patrón exudativo mucoso, constituido por lesiones blanquecinas que traducen acúmulos epiteliales o microabscesos constituidos por eosinófilos, y que son de distinto tamaño, desde un fino punteado blanquecino hasta lesiones de aspecto descamativo.

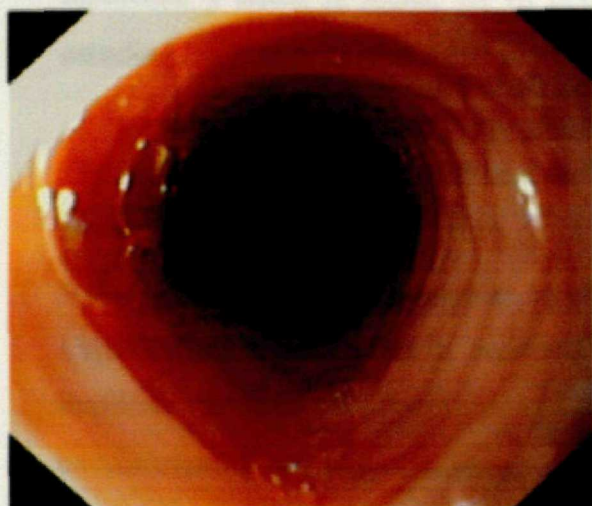


**Figura 40a.** Mucosa de aspecto irregular con sobre-levaciones papulares.



**Figura 40b.** Surcos lineales a lo largo de la longitud del órgano, sobre una mucosa con finas irregularidades.





**Figura 40c.** Mucosa de aspecto ondulado con escasas irregularidades en su superficie en un esófago de calibre normal.



**Figura 40d.** Exudados blanquecinos de origen no erosivo sobre una mucosa que muestra surcos lineales longitudinales y aspecto ondulado.

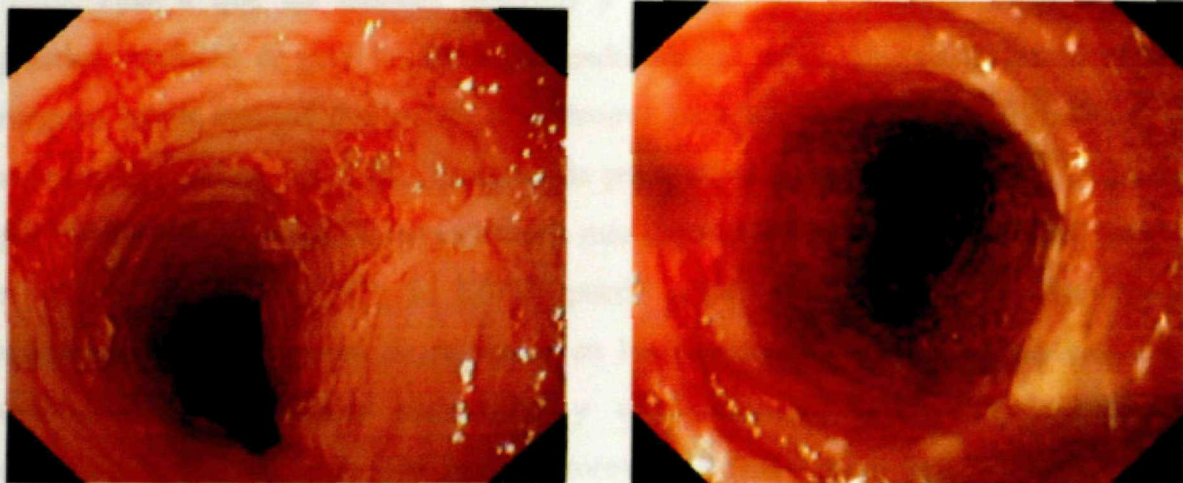
Todas las lesiones descritas responden a un mismo patrón de lesión histopatológica, caracterizada por edema del epitelio, con aumento de los espacios intercelulares, celularidad epitelial incrementada, a expensas de cambios hiperproliferativos e infiltrado celular inflamatorio <sup>78,144</sup>, con diferentes grados de expresión. Precisamente estas diferencias en la intensidad de los cambios histopatológicos pudieran ser el origen de los distintos patrones endoscópicos. Los cambios histológicos más discretos endoscópicamente resultarían inapreciables, o producirían una afectación mucosa focal (patrón papular). El edema mucoso moderado formaría surcos longitudinales en las líneas de plegamiento del esófago, apreciables cuando el órgano es distendido, y si además afecta a la *muscularis mucosae* presentará aspecto ondulado <sup>89</sup>. Cuando las células inflamatorias confluyen en la superficie del epitelio constituyen microabscesos, que si son muy grandes conducen a la descamación de las áreas apicales del mismo (último patrón descrito) (Figura 41).

La superposición conjunta de las distintas lesiones endoscópicas descritas confieren a la mucosa del esófago de estos pacientes un aspecto frágil y quebradizo, que además puede ser comprobado cuando, durante la toma de biopsias, se producen despegamientos de la superficie de la mucosa con aspecto de "papel crêpe" que pueden ser debidos a pérdidas de elasticidad mucosa. Aunque algún autor ha sugerido que dicha fragilidad mucosa pudiera constituir un hallazgo patognomónico <sup>141</sup>, en absoluto compartimos esta



hipótesis, y hasta la fecha, no es posible admitir un diagnóstico de EE en ausencia de estudio histológico compatible.

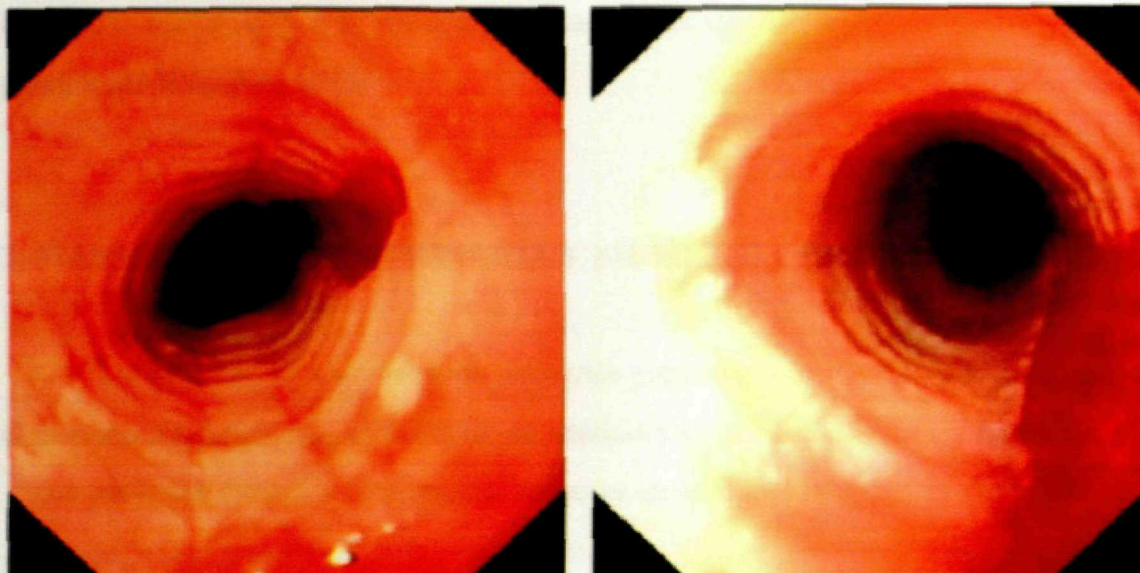
Sobre la existencia de una posible relación entre el tipo o intensidad de la lesión mucosa esofágica y la frecuencia de los ataques de disfagia no existen claros datos, aunque todo apunta a la consideración teórica de que los cambios supurativos más intensos (aquellos manifestados en la endoscopia como gran cantidad de exudados blanquecinos) implican fenómenos destructivos de mayor intensidad en la mucosa esofágica, condicionados por mayor número de eosinófilos activados y, en consecuencia, deben ser asociados a una más severa disfunción del músculo liso del esófago. Straumann describió una correlación significativa entre estos 2 aspectos <sup>132</sup>, que no ha podido ser confirmada en nuestra serie.



**Figura 41.** Patrón mucoso exudativo, expresado con distintos grados de intensidad, caracterizado por una exudación de aspecto blanco-amarillento, constituida por microabscesos de eosinófilos. Cuando es muy intensa (segunda imagen), asemeja el aspecto de una esofagitis aguda.

Un último tipo de lesiones endoscópicas son los desgarros y dislaceraciones de la mucosa que aparecen tras los esfuerzos del paciente por provocarse el vómito y liberarse así del alimento impactado, o bien son consecuencia de las dilataciones con balones hidrostáticos o con bujías que muchos autores emplean como tratamiento de sus pacientes con EE y que serán comentadas más adelante (Figura 42).





**Figura 42.** Dos casos de desgarro esofágico, manifestados por una disrupción de anillos.

Pese a que las lesiones descritas y sus posibles combinaciones representan la práctica totalidad de posibles hallazgos endoscópicos en la EE, no podemos reconocer ninguna lesión mucosa que pueda considerarse patognomónica para el diagnóstico de la enfermedad. Del mismo modo, tampoco la presencia de un esófago anillado, considerado por muchos autores uno de los elementos más característicos de la enfermedad, puede por sí mismo diagnosticar EE; la ERGE puede presentarse endoscópicamente con esta apariencia en algún grupo de pacientes en los que se ha descartado específicamente la existencia de infiltración eosinofílica y que muestran buena respuesta clínica y endoscópica al tratamiento con antisecretores<sup>145;146</sup>. Tal y como hemos advertido, en una gran proporción de casos las lesiones endoscópicas serán discretas o muy poco aparentes, pero el observador entrenado no presentará ningún problema para la identificación de las mismas y el establecimiento de un diagnóstico endoscópico de sospecha, que necesariamente deberá ser confirmado mediante la toma de biopsias y el examen histológico de las mismas.

En nuestros pacientes, la resolución de los cambios histopatológicos y del infiltrado eosinofílico del epitelio esofágico se acompañó de una evidente normalización de los hallazgos endoscópicos. Tras el tratamiento el 96.6% de nuestros pacientes mostraba esófagos de calibre normal y el aspecto de la mucosa fue descrito como “normal” en el 63.3% de los casos. En una pequeña proporción de pacientes persistía una mucosa de aspecto granular o con estriaciones longitudinales, aun con histología esofágica normal.

Este dato apoya aún mas nuestra aseveración de que no existen lesiones endoscópicas patognomónicas para la EE.

### 3. MANOMETRÍA ESTACIONARIA Y pH-METRÍA ESOFÁGICAS.

La gran mayoría de nuestros pacientes presentaron distintos tipos de alteraciones en el examen manométrico del esófago; su análisis y el de los datos previamente comunicados<sup>70</sup> nos permiten dilucidar importantes aspectos en la fisiopatología y la clínica de la EE.

#### 3.1. ORIGEN DEL TRASTORNO MOTOR EN LA EE.

Existen diversas pruebas de que la infiltración o presencia de eosinófilos por si misma es capaz de inducir disfunción motora gastrointestinal, aunque no han sido completamente aclarados los mecanismos que pudieran conducir a la misma. Además de las observaciones clínicas al respecto<sup>62,91</sup>, se ha desarrollado un modelo animal murino<sup>63</sup> en el que se provoca inflamación eosinofílica gastrointestinal mediante estimulación con antígenos orales encapsulados para evitar la proteólisis y subsiguiente pérdida de capacidad antigénica. La inflamación inducida por estos antígenos mimetiza algunos aspectos patológicos asociados con las enfermedades eosinofílicas gastrointestinales humanas: Se consigue reproducir una respuesta inmunológica tipo T<sub>H</sub>2, tanto local como sistémica, caracterizada por la secreción de citocinas como IL-4, IL-5 y eotaxina, pero no de IFN- $\gamma$ , que se acompaña de un marcado incremento en el número de eosinófilos intraepiteliales en el esófago, intestino delgado y placas de Peyer de los ratones, así como disminución del vaciamiento gástrico, gastromegalia, pérdida de peso y caquexia del animal. El análisis histológico del yeyuno de estos ratones mostraba eosinófilos próximos a los nervios entéricos dañados, que presentaban cambios propios de necrosis axonal, como también se observa en las enfermedades gastrointestinales humanas asociadas a eosinófilos<sup>64</sup>. Recientemente han sido comunicados dos varones jóvenes con retraso del vaciamiento gástrico que presentaban infiltración eosinofílica de la pared gástrica y degeneración muscular asociada<sup>65</sup>.

Los datos presentados suponen que los eosinófilos están implicados, al menos en parte, en mediar los hallazgos patológicos descritos. Para averiguar los mecanismos moleculares implicados en este hecho, Hogan *et al* ensayaron la función potencial de



**eotaxina** en la infiltración eosinofílica a través del desarrollo experimental de ratones deficientes en eotaxina <sup>63</sup>. Cuando a estos animales se les inducía una sensibilización alérgica mediante antígenos orales encapsulados, mostraban una reducción en el reclutamiento de eosinófilos dentro de la pared del intestino. Como consecuencia, estos ratones no mostraron gastromegalia ni pérdida de peso, lo que podría indicar que esta quimiocina actúa directamente sobre receptores CCR-3 expresados en el leucocito eosinófilo y media por sí misma el desarrollo de las respuestas patológicas observadas en las enfermedades gastrointestinales asociadas a eosinófilos. También se ha comprobado recientemente que ratones deficientes en el receptor de eotaxina CCR-3 se muestran protegidos frente al desarrollo de EE experimental <sup>80</sup>. Por otro lado, en los pacientes con EE existe una sobreexpresión del gen codificante de eotaxina-3 con respecto a otras formas de esofagitis crónicas, y sus niveles de mRNA se correlacionan con la eosinofilia tisular <sup>80</sup>.

Se ha descartado la posibilidad de que la eotaxina pueda ejercer algún efecto directo sobre las células T con polarización  $T_H2$  <sup>147</sup>, mediante el examen de la expresión de citocinas específicas de perfil  $T_H2$  en los ganglios linfáticos mesentéricos en ratones deficientes en eotaxina. Se concluye así que la deficiencia en eotaxina no tiene efecto en la producción de respuestas inmunológicas tipo  $T_H2$ , y que, en consecuencia, eotaxina no influye en la capacidad de sensibilización alérgica del huésped, pero sí lo hace en el reclutamiento de eosinófilos hacia la pared del tubo digestivo.

### 3.2. MECANISMOS DEL TRASTORNO MOTOR EN LA EE.

Como hemos comprobado, las evidencias apuntan a que la infiltración o presencia de eosinófilos por sí misma es capaz de inducir disfunción motora gastrointestinal, pero debemos profundizar en el conocimiento de los mecanismos íntimos por los que se produce la misma. En este sentido, parece lógico pensar que el papel patológico de los eosinófilos puede desarrollarse sobre cualquiera de las estructuras de la pared gastrointestinal implicadas en la función motora del tubo digestivo. Estas son, las células ganglionares o neuronas de los plexos mientérico y submucoso, las prolongaciones axonales de las mismas o las propias fibras musculares del tubo digestivo. La biopsia endoscópica solamente permite el estudio de la mucosa esofágica, sin añadir información sobre las posibles alteraciones presentes en los estratos subyacentes, de modo que el conocimiento de la posible afectación de estructuras neuromusculares de la pared esofágica

debe obtenerse a partir de aisladas experiencias clínicas comunicadas en la literatura, o del estudio de modelos animales que reproduzcan la enfermedad.

Del estudio clínico y funcional de nuestros pacientes y de otros con infiltración eosinofílica esofágica estudiados mediante manometría y comunicados en la literatura, pueden deducirse algunos datos de importancia. El primero de ellos es que, aunque la infiltración eosinofílica del epitelio esofágico se pueda observar a lo largo de toda la longitud del órgano, la presencia de estenosis en la luz o las impactaciones alimentarias se localizan con mayor frecuencia sobre los dos tercios distales del órgano. Paralelamente, los trastornos manométricos observados en todos nuestros pacientes se registraron exclusivamente en los dos tercios distales del órgano, y en todos los casos se mantenía una buena función de esfínter esofágico superior y una adecuada coordinación faringo-esofágica. Buscando una correlación con la distribución anatómica del músculo esofágico, parece evidente que las alteraciones motoras y las consecuencias clínicas y endoscópicas derivadas de las mismas en la EE quedan restringidas a la porción esofágica constituida por músculo liso (los dos tercios distales del órgano), manteniéndose la integridad funcional del tercio proximal esofágico, aquel con pared constituida por músculo estriado.

Landres describió el caso de un paciente diagnosticado de gastroenteritis eosinofílica con afectación del esófago que presentaba un trastorno motor que manométricamente correspondía a una achalasia vigorosa, motivo por el que fue sometido a una miotomía extramucosa según la técnica descrita por Heller<sup>148</sup>. La biopsia de la capa muscular propia del esófago mostraba una hipertrofia de la misma además de una densa infiltración por eosinófilos, datos sugestivos de que las manifestaciones esofágicas de la enfermedad son secundarias a la misma. La ultrasonografía endoscópica en la esofagitis eosinofílica ha revelado un engrosamiento de la mucosa y submucosa esofágicas<sup>149</sup>, así como de la capa muscular<sup>150</sup>, aunque esta última observación también podría significar un aumento en su tono muscular.

Por otro lado, los estudios microscópicos en las enfermedades gastrointestinales asociadas a eosinófilos han mostrado cambios ultraestructurales en los gránulos del leucocito eosinófilo que pueden indicar degranulación y liberación de los mediadores allí contenidos. También han sido detectados mediante tinciones específicas proteínas propias del eosinófilo en los tejidos extracelulares de pacientes con enfermedades eosinofílicas



gastrointestinales y en muestras de pacientes con EE <sup>78</sup>. Concretamente, la Proteína Mayor Básica (MBP) es la toxina más abundante de las contenidas en los gránulos citoplasmáticos de los leucocitos eosinófilos <sup>151,152</sup>, y se encuentra directamente relacionada con los efectos citotóxicos directos observados en las enfermedades eosinofílicas. Pero la MBP también es un potente agonista capaz de unirse a receptores muscarínicos para acetilcolina de tipo M2 con gran afinidad e inducir potente estimulación del mismo <sup>18</sup>. Los receptores muscarínicos M2 gobiernan la función contráctil del músculo liso gastrointestinal <sup>89</sup>, precisamente el que constituye los dos tercios distales de la pared muscular esofágica. Su estimulación directa por MBP podría resultar en un incremento directo de la reactividad del músculo liso <sup>153,154</sup> e hipercontractilidad del mismo, detectable mediante estudios manométricos.

Para comprobar el efecto de la activación y degranulación eosinofílica en la fisiopatología de la EE, realizamos inmunotinciones frente a MBP sobre las muestras de epitelio esofágico de nuestros pacientes y sobre las procedentes de los sujetos controles. En todos nuestros pacientes se pudo demostrar la presencia de positividad frente a esta proteína, manifestada por la tinción de abundantes leucocitos eosinófilos en el epitelio, que desaparecía en las biopsias obtenidas tras el tratamiento esteroideo. Ni en las muestras de sujetos "normales" ni en las procedentes de pacientes con esofagitis péptica pudimos observar positividad frente a MBP, dato indicativo de la función central de esta proteína en el desarrollo de los fenómenos patológicos y motores que acontecen en la EE. Además, la resolución del infiltrado eosinofílico fue paralela a la normalización de la función motora del esófago de nuestros pacientes.

Por otro lado, los eosinófilos generan grandes cantidades de mediadores lipídicos como leucotrienos, que también son potentes estimuladores de la contracción del músculo liso. En este sentido parece razonable concluir que la activación de los eosinófilos puede contribuir, de un modo evidente, a los ataques de disfagia en la EE.

Los eosinófilos pueden actuar, no sólo como efectores directos, sino también como moduladores de la respuesta inflamatoria. Esta función implica la atracción de mastocitos hacia el estrato epitelial de la pared gastrointestinal, con incremento en la producción de IL-5, IL-8 y RANTES <sup>88</sup>, moléculas capaces de reclutar linfocitos T CD8<sup>+</sup> y eosinófilos hacia la mucosa <sup>82</sup> y retroalimentar, de este modo, el proceso inflamatorio. El estudio histológico en la alergia alimentaria mediante microscopia confocal ha mostrado la

presencia de mastocitos localizados en la proximidad de fibras nerviosas aferentes<sup>91</sup>, cuya degranulación de histamina<sup>89</sup> podría alterar la estabilidad de la membrana neuronal. Los mastocitos también contienen en sus gránulos Leucotrieno C4, que, como se ha comentado previamente, es un estimulador directo de la contracción del músculo liso<sup>90</sup>. Mediante inmunotinción frente a triptasa, hemos demostrado la presencia de mastocitos residentes en el epitelio esofágico humano, que se incrementaban notablemente en la EE y que disminuían su densidad tras el tratamiento esteroideo, también de forma paralela a la resolución de los trastornos manométricos.

### 3.3. TRASTORNOS MANOMÉTRICOS EN LA EE.

En una revisión exhaustiva de la literatura hemos encontrado 72 casos de infiltración eosinofílica esofágica en los que se ha realizado estudio de la función motora del órgano mediante registros manométricos (Tabla 8). Estos pacientes incluían 38 niños y otros 2 pacientes estaban diagnosticados de gastroenteritis eosinofílica con afectación del esófago. Por estas razones solo han sido comunicados en la literatura un total de 34 pacientes adultos en los que se ha evaluado la función motora esofágica mediante manometría. De este modo, nuestra serie de casos de EE es la más amplia comunicada hasta la fecha con estudio manométrico.

De los 72 pacientes con infiltración eosinofílica esofágica descritos en la literatura, en 45 de ellos se han descrito distintos tipos de trastornos manométricos (62.5 % de la serie global), que vienen a representar todo tipo de alteraciones motoras, la mayoría de tipo espástico o con hipercontractilidad. De este modo, la literatura describe en la EE trastornos motores que cumplen criterios de achalasia vigorosa<sup>148</sup>, espasmo esofágico difuso<sup>52,53,155,156</sup>, esófago "en cascanueces"<sup>52,107</sup>, o la presencia de ondas peristálticas de gran amplitud<sup>106,149,157</sup>. De acuerdo con los datos publicados por otros autores, 9 de nuestros pacientes mostraron en el estudio manométrico ondas de gran amplitud, principalmente localizadas en el tercio distal del órgano, en la mayor parte de los casos con capacidad peristáltica del cuerpo esofágico conservada. En contraste con esto, 17 pacientes mostraron alteraciones motoras inespecíficas principalmente caracterizadas por peristalsis muy deficientes, con ondas peristálticas de muy baja amplitud y degluciones ineficaces con ondas no transmitidas. En 6 pacientes pudimos registrar ondas simultáneas de baja amplitud, que suponían más del 20% del trazado manométrico. No hemos podido



establecer ninguna correlación entre la densidad del infiltrado eosinofílico epitelial y el tipo de trastorno motor observado en la manometría.

**Tabla 8.** Hallazgos manométricos descritos en la literatura y asociados a infiltración eosinofílica esofágica.

Author (referencia)	Número de pacientes	Hallazgos Manométricos
Attwood et al (1993)	2	Espasmo esofágico difuso.
	2	Esófago en cascanueces.
	8	Contracciones del cuerpo esofágico durante las degluciones de duración anormalmente corta.
Borda et al (1996)	1	Ausencia de peristaltismo primario y sustitución por ondas terciarias.
Cheung et al (2003)	11 (niños)	Manometría normal.
Hempel et al (1996)	1 (#)	Contracciones terciarias vigorosas, compatibles con espasmo esofágico difuso. Tono del EEI disminuido.
Vitellas et al (1993)	1	Espasmo esofágico difuso
	1	Ondas prolongadas y de gran amplitud. Aumento del tono del EEI.
	1	Relajación incompleta del EEI.
	9	Manometría normal.
Landres et al (1978)	1 (#)	Relajación incompleta del EEI y espasmo esofágico difuso, compatible con Achalasia vigorosa.
Dobbins et al (1977)	1	Contracciones simultáneas aumentadas en el esófago distal.
Arora et al (2003)	1	Esófago en cascanueces, con amplitudes medias y distales >180 mmHg
	1	Cambios motores inespecíficos
	4	Manometría normal.
Nurko et al (2001)	16 (niños) (*)	Peristalsis ineficaz tras la ingesta, contracciones de gran amplitud y ondas peristálticas ineficaces.
Matzinger et al (1983) <sup>158</sup>	1 (niño) (#)	Dismotilidad esofágica (\$).
McCarty (1990) <sup>159</sup>	1 (#)	Dismotilidad esofágica. (\$).
De Agustin et al (2002)	1 (niño)	Hipertonidad del EES. Pérdida de la capacidad propulsiva en cuerpo medio.
	1 (niño)	Ondas simultáneas en 2 tercios inferiores esofágicos. Presión de reposo del EEI elevada
Orenstein et al (2000)	1 (niño)	Manometría normal.
Prieto et al (2003) <sup>157</sup>	6 (niños)	Ondas potentes y amplias, con secuencias simultáneas, afectando al tercio distal
Gómez Chiari (2003) <sup>160</sup>	2 (niños)	Manometría normal

(\*) Manometría ambulatoria de 24 horas. (#) Se trataba de casos de gastroenteritis eosinofílica con afectación esofágica. (\$) Valorada radiológicamente por esofagograma baritado. EEI: Esfínter esofágico inferior.

### 3.3.1. Cuerpo esofágico.

Pese a que la literatura describe todo tipo de trastornos motores en los muy escasos pacientes, tanto niños como adultos, con EE estudiados mediante manometría, del estudio conjunto de los datos publicados y de nuestros pacientes podemos extraer conclusiones relevantes <sup>161</sup>. Así, el comportamiento manométrico del cuerpo esofágico en los pacientes con EE puede ser clasificado en dos patrones diferentes <sup>162</sup>:

- 1) Por una parte, trastornos espásticos o hipercinéticos que pudieran representar una fase inicial en la evolución clínica de la EE en la cual aún se conserva la función peristáltica del órgano.
- 2) Por otro lado, registros manométricos caracterizados por peristalsis muy deficientes y ondas simultáneas de baja amplitud que podrían tratarse de formas clínicas evolucionadas que suponen fallo de la capacidad dinámica del músculo liso esofágico después de una primera fase clínica hipercinética.

Distintas evidencias pueden apoyar la hipótesis antes planteada. De la lectura atenta de la literatura se desprende la constatación de que la formas infantiles de EE (presumiblemente las de menor tiempo de evolución) se acompañan de trastornos hipercinéticos en la manometría estacionaria esofágica. Este hecho ha sido comprobado también en la población pediátrica afecta de EE atendida por la consulta de Gastroenterología del Hospital Infantil La Paz, quienes observan esófagos hiperperistálticos en el estudio de sus pacientes <sup>157</sup>. Atendiendo a este hecho, debiéramos buscar también en nuestros pacientes una relación temporal entre la evolución clínica del trastorno y el patrón manométrico esofágico encontrado. Del análisis de nuestros casos se desprende que ciertamente existe esta tendencia, y que los casos con mayor tiempo de evolución de sus síntomas también son los que presentan dinámicas esofágicas más deterioradas.

Sin embargo, no es posible establecer de manera absoluta un intervalo de tiempo que permita predecir el tipo de trastorno manométrico a encontrar, o lo que es lo mismo, el tiempo necesario para que fracase la función peristáltica del órgano desde el establecimiento del infiltrado eosinofílico en el esófago. Las limitaciones a este hecho vienen determinadas por diferentes aspectos. El primero de ellos es que la infiltración



eosinofílica de la mucosa esofágica puede ser intermitente a lo largo del tiempo, y variable en cuanto a su intensidad. Es un hecho comprobado que la presentación de los síntomas esofágicos y la existencia o no de eosinofilia en la mucosa del órgano puede variar según la exposición a antígenos ambientales de carácter estacional en aquellos pacientes en los que la EE está determinada por una reacción alérgica a tales antígenos<sup>57,163</sup>. Del mismo modo, el grado de activación y de degranulación de los leucocitos eosinófilos también podría ser variable a lo largo del tiempo, y por tanto, podría igualmente variar la presencia de Proteína Mayor Básica (MBP) en el medio extracelular y su fijación al receptor para acetilcolina de tipo M2.

De todos modos, la evolución temporal en el trastorno manométrico asociado a la esofagitis eosinofílica que hemos planteado en nuestra hipótesis también puede ser observada en pacientes con otras enfermedades que afectan a la dinámica del esófago, tales como la achalasia o las manifestaciones manométricas asociadas al reflujo gastroesofágico patológico, en las que inicialmente se manifiestan por el registro de ondas (peristálticas o no) de amplitud aumentada, y con posterioridad evolucionan hacia esófagos "agotados" con capacidad motora fracasada.

Pero en otro orden de cosas, la revisión de la literatura también ha mostrado que en una amplia proporción de pacientes ha sido observada motilidad esofágica normal<sup>88,107,166</sup>. Este hecho ha sido también comprobado en 3 de nuestros pacientes (10% de la serie), de quienes obtuvimos registros manométricos normales pese a la existencia de antecedentes de impactación alimentaria en el esófago, disfagia de larga evolución y estenosis en la exploración endoscópica. El hecho de que no todos los pacientes afectados de EE presenten trastornos manométricos podría ser explicado por distintas razones. La primera es que este trastorno sea de carácter intermitente o no siempre detectable mediante los parámetros habituales de medida<sup>88</sup>. Por otra parte, el hecho de que durante la exploración mediante manometría estacionaria esofágica los pacientes evaluados no reciban alimentos orales podría influir en el desencadenamiento de dinámicas esofágicas alteradas, e incluso en la amplia variabilidad de hallazgos manométricos encontrados en la EE. En este sentido, los trabajos que Nurko *et al*<sup>164</sup> desarrollaron en niños con diagnóstico de EE y sin trastornos motores en la manometría estacionaria arrojan luz en la interpretación de los registros manométricos normales de pacientes con EE. Cuando estos autores realizaron exploración mediante manometría ambulatoria de 24 horas pudieron demostrar una mayor frecuencia

de peristalsis ineficaces después de las comidas, de contracciones esofágicas de gran amplitud y de ondas no transmitidas que las que mostraban los casos controles. En nuestro servicio no disponemos de exploración manométrica ambulatoria, por lo que no pudimos comprobar el comportamiento dinámico "en condiciones reales" de pacientes con registros estacionarios normales. En todo caso, los trastornos observados por Nurko <sup>164</sup> no han sido descritos en la esofagitis péptica y se relacionan con la función anormal del esófago condicionada por la infiltración eosinofílica del mismo.

### **3.3.2. Esfínter esofágico superior.**

La evaluación manométrica del esfínter esofágico superior, constituido por músculo esquelético, no mostró alteraciones en ninguno de nuestros pacientes, con valores de presión incluidos en rangos normales. La absoluta normalidad de la evaluación motora del tercio superior del esófago corrobora la hipótesis anteriormente planteada de que la afectación muscular condicionada por infiltración eosinofílica se restringe al músculo liso.

### **3.3.3. Esfínter esofágico inferior. Implicaciones en la pH-metría.**

Sin embargo, la valoración del esfínter esofágico inferior, que recordemos está anatómicamente constituido por un engrosamiento de la capa muscular propia del esófago distal, sí mostró algunos datos patológicos. La medición de su presión basal resultó hipotensa en 12 pacientes y normal en el resto. Al comparar este hecho con los resultados de la pH-metría de 24 horas y con la descripción de posibles hernias de hiato en las exploraciones endoscópicas, observamos ausencia de correlación entre estos datos, de manera que, en nuestros pacientes, la hipotensión del esfínter no se correlaciona con un registro pH-métrico patológico ni con lesiones orgánicas en la endoscopia. De este modo, podemos plantear la teoría de que la alteración en las presiones y en el comportamiento dinámico del cardias posiblemente tienen un origen funcional, relacionado con toda seguridad con la infiltración eosinofílica de sus estructuras musculares, que recordemos están constituidas por músculo liso. De este modo, con el estudio de motilidad en la EE podemos contribuir a afianzar la teoría planteada por distintos autores que propone que el tercio distal del esófago y el cardias constituirían una única unidad funcional con implicaciones fisiopatológicas comunes.

Si vamos más allá, el análisis histológico de 4 de nuestros pacientes demostró la existencia de infiltrado diagnóstico de EE (más de 24 eosinófilos/ HPF) en las muestras del



tercio superior del órgano, pero no en las del tercio inferior, donde la densidad de estas células era menor y coexistía con lesiones histológicas propias de ERGE. Sin embargo, el estudio pH-métrico de 24 horas de estos pacientes no reveló reflujo gastroesofágico patológico, pese a lo cual en estos casos se instauró tratamiento con un fármaco inhibidor de la bomba de protones a dosis plenas durante 2 meses (tratamiento recomendado para la cicatrización de las lesiones endoscópicas en la ERGE <sup>165</sup>). Las biopsias tomadas posteriormente permitieron valorar la existencia del infiltrado diagnóstico de EE en ambos tercios esofágicos.

A través de la observación descrita podemos concluir que la alteración motora de la esofagitis eosinofílica podría determinar por sí misma la existencia de episodios de reflujo gastroesofágico, presumiblemente de baja intensidad, que son debidos a una alteración de la función esfinteriana del cardias, y que se manifiestan por la presencia de lesiones histológicas de ERGE (infiltrado inflamatorio agudo o neutrofílico con escasos eosinófilos), aún en ausencia de lesiones pépticas en la endoscopia.

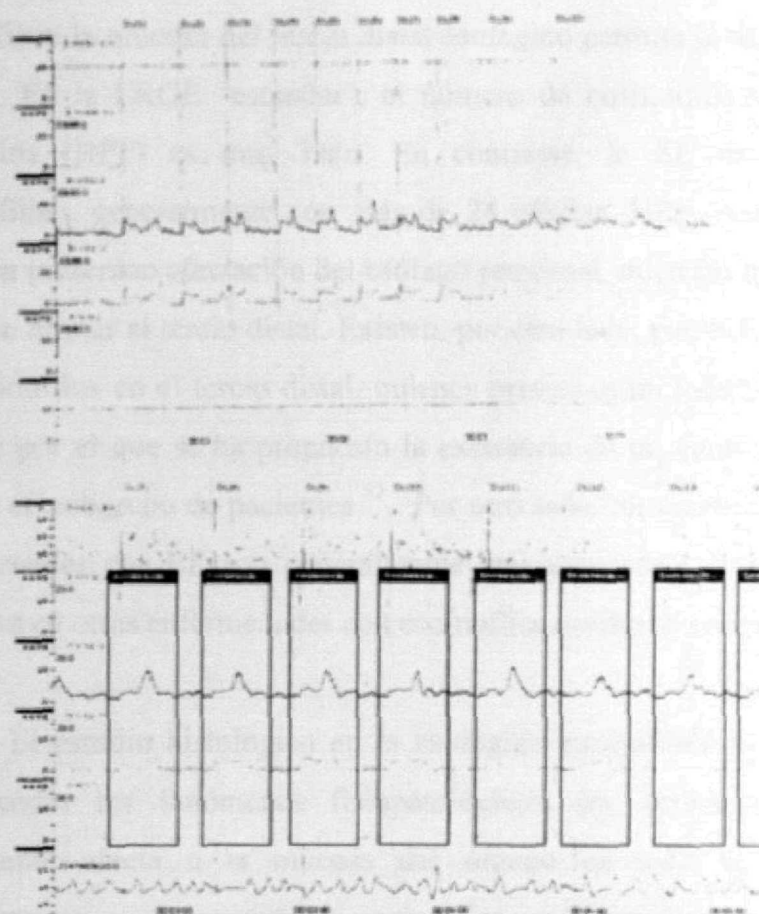
Existe en este momento una estrecha conexión entre dos entidades bien diferenciadas, ambas capaces de originar infiltración del tercio distal del esófago por leucocitos eosinófilos <sup>68,131</sup>, que pueden coexistir en algunos pacientes como dos entidades independientes, pero también en otros casos, ambas podrían mantener una relación causal. La distinción entre el RGE primario y aquel otro originado por la inflamación eosinófila del esófago y, por tanto, reversible con tratamiento esteroideo, debe realizarse a través del estudio de distintos aspectos: de la existencia de lesiones en la endoscopia capaces de ocasionar RGE por sí mismas, de la valoración pH-métrica de 24 horas, y de la respuesta histológica del infiltrado inflamatorio del tercio distal del esófago al tratamiento antisecretor potente. Más adelante veremos que los estudios histológicos mediante inmunohistoquímica también pueden resultar muy útiles para distinguir entre ambas entidades.

Los trastornos motores esofágicos se clasifican en primarios y secundarios. Los trastornos motores primarios comprenden una serie de procesos de origen desconocido cuya aparición no está relacionada con otras enfermedades y que se limitan al esófago. El diagnóstico de tales trastornos motores primarios está basado en los hallazgos manométricos, en el contexto de un cuadro clínico compatible, con disfagia y dolor

torácico como las manifestaciones más comunes. En este contexto, es necesario descartar ciertas condiciones clínicas que pueden producir manifestaciones similares y que pueden atribuirse a enfermedades sistémicas metabólicas o neuromusculares o a síndromes paraneoplásicos. Las alteraciones secundarias a procesos esofágicos intrínsecos, tales como la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) o las enfermedades esofágicas orgánicas también deben ser descartadas <sup>117</sup>. La mayoría de los autores coinciden en que los trastornos motores esofágicos primarios constituyen un amplio grupo de alteraciones de la motilidad, que abarcan desde la achalasia y los trastornos motores espásticos (espasmo esofágico difuso y peristalsis sintomática) hasta alteraciones motoras inespecíficas. Desde esta perspectiva, las alteraciones motoras debidas a la infiltración eosinofílica del esófago podrían ser consideradas trastornos motores primarios e incluidas como tales en el concepto de "motilidad esofágica ineficaz" descrito por Spechler y Castell <sup>166</sup>.

Tras 3 meses de tratamiento esteroideo tópico se repitió el registro manométrico en aquellos pacientes que mostraron un trastorno motor en la manometría inicial. Se observó una marcada mejoría con normalización de la función motora en todos los casos. En aquellos pacientes que mostraban una pérdida de la capacidad peristáltica del órgano el efecto del tratamiento fue más llamativo, con recuperación del peristaltismo normal (Figura 38). En los pacientes con registros hipercinéticos, se redujo la proporción de ondas de amplitud aumentada. En los pacientes tratados que disponían de 2 registros manométricos se realizó un análisis estadístico comparando la proporción de ondas peristálticas (independientemente de su amplitud) y de ondas no peristálticas (considerando como tales las ondas no transmitidas y las simultáneas) pre y post tratamiento (Figura 43). En ambos casos, la mejoría observada alcanzó significación estadística.





**Figura 43.** Registros manométricos del cuerpo esofágico del paciente 12, obtenidos antes y después de tratamiento esteroideo tópico. En la parte superior registro aperistáltico, constituido por ondas simultáneas de muy baja amplitud. En la parte inferior, registro con ondas peristálticas.

La recuperación de la dinámica motora esofágica fue paralela en todos los casos a la desaparición del infiltrado eosinofílico patológico y se acompañó de mejoría sintomática significativa. Este es un dato más a favor del carácter funcional que posee la alteración motora en la EE y supone la primera constatación en la literatura científica <sup>162</sup> de que las manifestaciones clínicas y las alteraciones endoscópicas en el calibre de la luz esofágica son secundarias a la alteración de la funcionalidad del músculo liso esofágico.

#### 4. HISTOPATOLOGÍA.

Los hallazgos observados en nuestros pacientes con EE son similares a los que se presentan en la enfermedad por reflujo gastroesofágico. En ambas entidades se puede apreciar hiperplasia de la capa basal del epitelio, papilas más numerosas y elongadas, edema e inflamación intraepitelial <sup>144</sup>. Sin embargo, el número de leucocitos eosinófilos

que infiltra la mucosa del tercio distal esofágico permite la distinción entre EE primaria y ERGE. En la ERGE "estándar", el número de eosinófilos valorado por campo de 400 aumentos (HPF) es muy bajo. En contraste, la EE muestra un amplio infiltrado eosinofílico, generalmente con más de 24 células /HPF. Además, los pacientes con EE también presentan afectación del esófago proximal, mientras que en la ERGE la afectación se suele limitar al tercio distal. Existen, por otro lado, pacientes con un número intermedio de eosinófilos en el tercio distal, quienes presentan un fenotipo mixto entre ERGE y EE, motivo por el que se ha propuesto la existencia de un continuo entre ERGE y EE, en al menos un subgrupo de pacientes<sup>42</sup>. Por otro lado, los cambios histológicos observados en los pacientes con EE son generalmente más extensos y llamativos que aquellos que se aprecian en otras enfermedades con eosinofilia esofágica secundaria<sup>72</sup>.

El estudio histológico en la esofagitis eosinofílica muestra datos relevantes para comprender los fenómenos fisiopatológicos que acontecen en la enfermedad, que claramente afecta a la mucosa del órgano en toda su extensión, sin diferencias significativas en el recuento de eosinófilos entre los distintos tercios<sup>167</sup>. Por un lado, el denso infiltrado eosinofílico se acompaña de cambios bien definidos en la arquitectura del epitelio esofágico, consistentes en un aumento de la densidad celular del estrato basal o proliferativo (hiperplasia de células basales), aumento en la longitud de las papilas (papilomatosis) y también un aumento de la densidad celular en el espesor del epitelio, con engrosamiento del mismo y presencia de células de aspecto inmaduro (acantosis). Todos estos fenómenos vienen a significar, con toda probabilidad, una respuesta hiperproliferativa del epitelio esofágico presumiblemente secundaria a la destrucción del mismo. Por otra parte, el infiltrado por leucocitos eosinófilos se localiza en todo el espesor del epitelio, pero tiende a ser más intenso en los estratos más superficiales del mismo<sup>77</sup>, precisamente aquellos en más íntimo contacto con la luz del órgano, que es el punto de interacción entre la mucosa esofágica y los posibles alérgenos deglutidos. En algunos casos, los leucocitos eosinófilos se agregan cercanos a la superficie del epitelio, formando microabscesos que facilitan el despegamiento de las células más superficiales. Estos microabscesos se traducen en la endoscopia en un exudado puntiforme blanquecino, que ocasionalmente puede remedar lesiones candidiásicas. El efecto de estos leucocitos situados en los estratos más superficiales pudiera estar representado por el despegamiento de amplias superficies de mucosa observado cuando se toman biopsias endoscópicas.



Algunos autores <sup>52,76</sup> han sugerido que los defectos epiteliales o las lesiones histológicas que se observan en el análisis morfológico de muestras de mucosa esofágica obtenidas de pacientes con EE, e incluso las lesiones mucosas observadas en la endoscopia, no están determinados por la inflamación por eosinófilos. Sin embargo, en opinión de otros autores <sup>78,161</sup>, los eosinófilos poseen mecanismos lesionales suficientes que por sí mismos pueden ocasionar destrucción de la mucosa esofágica infiltrada. Los cambios regenerativos que se observan en el epitelio esofágico de estos pacientes representan los mecanismos reparadores del daño tisular.

En nuestra serie pudimos observar que no existía una correlación directa entre la severidad del daño endoscópico o histológico y el número de eosinófilos presentes en el infiltrado inflamatorio. Sin embargo, podrían existir otros factores más allá del simple recuento celular de eosinófilos en la mucosa que puedan determinar la aparición de daño tisular. De este modo, la inmunotinción frente a MBP determinó que el grado de activación del eosinófilo sí mostraba correlación con la severidad de las lesiones mucosas, al obtenerse mayores densidades de eosinófilos activados en los pacientes con lesiones mucosas exudativo-descamativas (patrón 4 de nuestra clasificación endoscópica).

Atendiendo a todas las evidencias disponibles, mediante nuestro trabajo también quisimos evaluar si los eosinófilos que infiltraban el epitelio esofágico de nuestros pacientes con EE asistían a los fenómenos inflamatorios locales como meros observadores (células quiescentes atraídas pasivamente a la mucosa del órgano) o, como nosotros pensábamos, desempeñaban un papel central en el proceso inflamatorio, siendo los principales agentes lesivos para la mucosa del órgano y actuando como reguladores de primer orden de la respuesta inflamatoria local. Nuestra hipótesis de trabajo proponía que el daño epitelial observado en la EE era consecuencia directa de las proteínas citotóxicas contenidas en los gránulos de los eosinófilos y liberadas tras la activación de los mismos. Partiendo del hecho de que el efecto tóxico de los eosinófilos frente a parásitos <sup>27,168</sup> y células <sup>169</sup> se debe principalmente a la secreción de diversas proteínas contenidas en sus gránulos citoplasmáticos tras la estimulación de los mismos <sup>169,170</sup>, la demostración de nuestra hipótesis se basaba en la confirmación de marcadores de activación de los eosinófilos en las muestras epiteliales de pacientes con EE.

Previamente habían sido desarrollados estudios inmunocitoquímicos con diversos anticuerpos de ratón frente a extractos de los gránulos eosinófilos y a sus productos secretados <sup>171</sup>. Dichos anticuerpos mostraban capacidad para fijarse a proteínas granulares activadas, como la Proteína Cationica del Eosinófilo (ECP), la Proteína Eosinofílica X (EP-X) y la Neurotoxina Derivada del Eosinófilo (EDN) <sup>172</sup>, y ofrecían importantes posibilidades en el estudio de la biología celular de este leucocito. Así, pronto se comprobó degranulación eosinofílica activa en muestras de piel de pacientes afectos de urticaria crónica <sup>171</sup> y en mucosa bronquial de pacientes asmáticos respecto a sujetos sanos <sup>173</sup>. Un estudio español <sup>174</sup> mostró que los eosinófilos aislados de sangre periférica de pacientes con asma bronquial extrínseco inestable, de difícil control, mostraban intensa activación respecto a pacientes con asma extrínseca estable o individuos sanos, dato este que revela que la activación del eosinófilo puede indicar, además, su acción reguladora de la inflamación que se desarrolla en tejidos a distancia.

La Proteína Mayor Básica (MBP) es la citotoxina más abundante de las contenidas en los gránulos citoplasmáticos del eosinófilo <sup>36</sup>, sus niveles se correlacionan con la severidad de los procesos inmunoalérgicos <sup>175,176</sup> y ha mostrado ser un buen marcador de activación y degranulación tisular <sup>78</sup>.

Realizamos inmunotinciones con un anticuerpo murino frente a MBP humana sobre muestras de epitelio esofágico procedentes de pacientes con diagnóstico de EE y obtenidas antes y después del tratamiento esteroideo tópico, de pacientes con lesiones endoscópicas e histológicas de ERGE y en sujetos normales. En condiciones basales los pacientes con EE mostraban intensa expresión de MBP en sus eosinófilos, signo de activación y degranulación de los mismos. Tras el tratamiento y en los controles con ERGE no se observó reactividad epitelial frente a MBP, lo que viene a corroborar nuestra hipótesis de que la activación y degranulación de los eosinófilos son las responsables del daño epitelial que acontece en la EE. Por el contrario, los escasos eosinófilos presentes en las muestras epiteliales de pacientes con ERGE y que no muestran signos de activación ni de degranulación podrían actuar como células reguladoras dentro del sistema inmunológico local a través de la producción de citocinas o quimiocinas.

Nuestros resultados son concordantes con algunas observaciones previas que habían detectado mediante inmunofluorescencia depósito extracelular MBP en el epitelio



de pacientes con EE, mientras que en pacientes con ERGE sólo se detectó una leve inmunotinción para MPB de presentación exclusiva intracelular <sup>59</sup> y con otro reciente estudio con inmunohistoquímica que detectó inmunoreactividad frente a MBP en áreas extracelulares que podrían indicar liberación del contenido del eosinófilo no visible mediante tinciones convencionales <sup>78</sup>.

Además de demostrar el papel etiológico central del eosinófilo en la esofagitis alérgica como célula efectora del daño epitelial, nuestro trabajo permite también afirmar que los métodos de inmunodetección de eosinófilos activados o de depósito extracelular del contenido proteico de sus gránulos, aunque en la actualidad no se consideran en el proceso diagnóstico rutinario, podrían suponer en el futuro un instrumento diagnóstico que ayude en la distinción entre EE y ERGE en el caso de pacientes con síntomas típicos pero con sólo mínimas alteraciones en las tinciones con hematoxilina y eosina.

## 5. INMUNOHISTOQUÍMICA Y ESTEREOLOGÍA.

El análisis microscópico estereológico permite cuantificar la densidad de un determinado tipo celular, a partir del número de elementos celulares contenidos en un volumen conocido de tejido. La aplicación de esta técnica en el sistema nervioso central es parte rutinaria de los estudios de neuroanatomía y neurofisiología, pero nunca se habían comunicado resultados de su aplicación en el epitelio esofágico humano. Por esta razón debimos considerar la introducción de casos que sirvieran como controles en nuestro estudio para conocer las densidades normales de los distintos elementos celulares ensayados. Se eligieron para ello muestras de esófago superior de 7 sujetos normales en los que se había excluido ERGE y de 7 pacientes con clínica y hallazgos endoscópicos de ERGE.

De este modo pudimos demostrar que el epitelio esofágico humano contiene, en condiciones normales, los elementos celulares necesarios para desarrollar respuestas inmunológicas locales; esto es, células procesadoras y presentadoras de antígenos, linfocitos y células efectoras finales. Además, pudimos cuantificar su número.

### 5.1. CÉLULAS DE LANGERHANS.

Las células de Langerhans son células dendríticas que derivan de la médula ósea<sup>177,178</sup> y se localizan en todos los epitelios escamosos<sup>179</sup>, incluido el esofágico, donde han sido identificadas mediante microscopía electrónica<sup>180</sup> e inmunoperoxidasa<sup>181</sup>, en un 50% de la cantidad observada en la epidermis<sup>182</sup>. Caracterizadas por su expresión de CD1a<sup>183,184</sup>, la células de Langerhans poseen diferente identidad de los monocitos-macrófagos, siendo más próximas ontogénicamente a las células dendríticas linfoides, con funciones en la presentación de antígenos, que atrapan en la piel y las mucosas, internalizan, digieren y transportan a los ganglios linfáticos<sup>185</sup>. Expresan un pequeño fragmento del antígeno sobre su superficie y lo presentan a los linfocitos T en conjunción con el MHC tipo HLA-DR<sup>186</sup> y la<sup>187</sup>, participando en respuestas celulares T antígeno-específicas<sup>188</sup>. En el esófago las células de Langerhans poseen la misma estructura que en la epidermis, asentando sobre el área suprabasal y a lo largo de las papilas de la *lamina propria*, manteniendo una posición estable, tal vez por la acción de moléculas de adhesión.



En nuestra serie observamos que no existían diferencias significativas entre la densidad de células CD1a<sup>+</sup> en el epitelio de los pacientes con EE y el de los controles normales o los pacientes con ERGE, tras el análisis estadístico por regresión lineal. Del mismo modo, el tratamiento esteroideo tópico no alteró la densidad de células de Langerhans del epitelio esofágico de nuestros pacientes. Nuestros datos son contrarios a los presentados por el único trabajo existente que mostraba una reducción en el número de células CD1a<sup>+</sup> tras el tratamiento de niños con EE<sup>82</sup> y sugieren que el epitelio esofágico humano posee una población residente de células presentadoras de antígenos que permanece estable incluso en condiciones patológicas. Puede deducirse de estas observaciones que el origen de la hipersensibilidad en la EE no está en una mayor intensidad en la presentación de antígenos (como podrían sugerir los resultados de Teitelbaum *et al*)<sup>82</sup>, sino en una pérdida de la tolerancia inmunológica por los linfocitos.

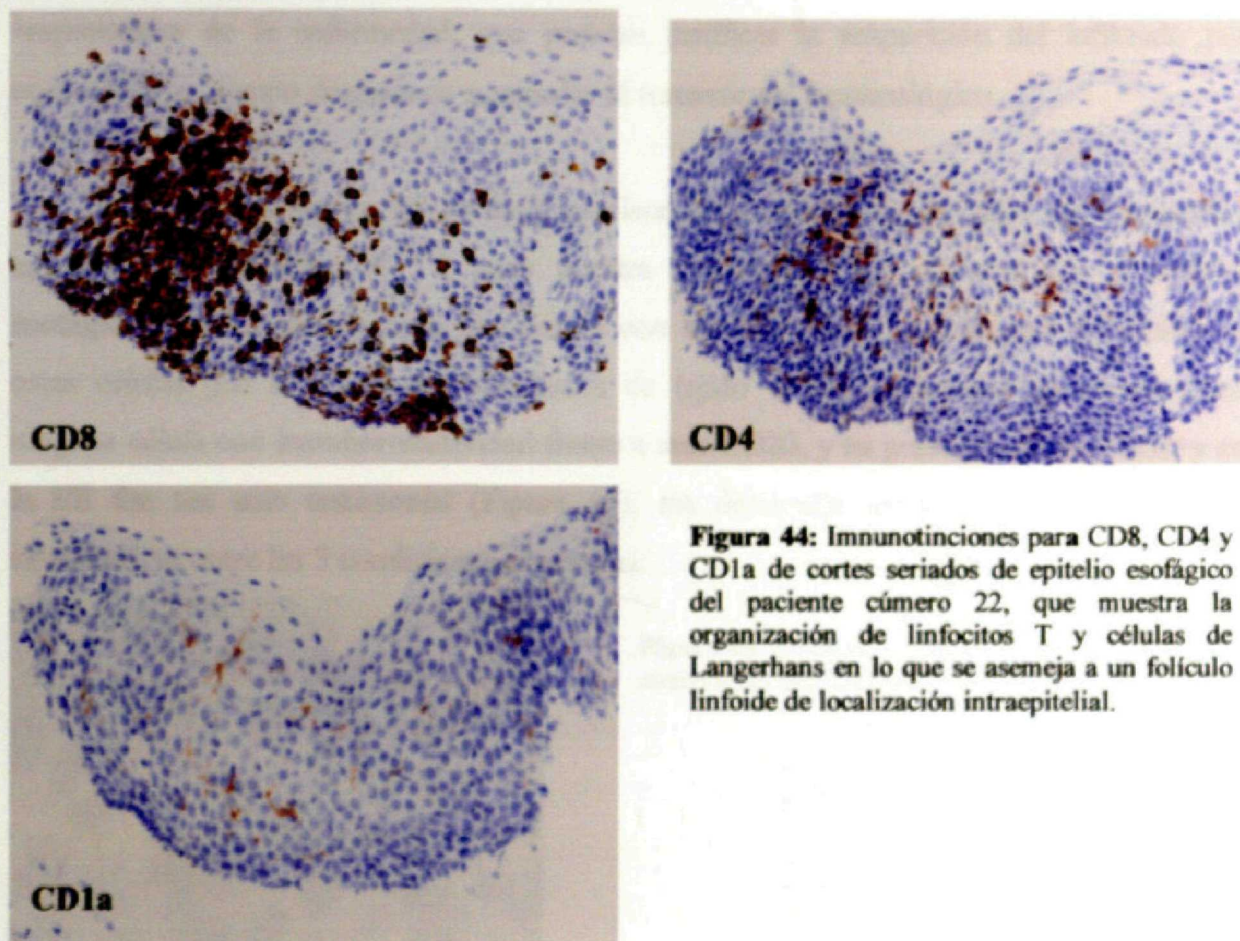
## 5.2. LINFOCITOS EN EL EPITELIO ESOFÁGICO.

Desde hace tiempo se conoce que en las condiciones inflamatorias del esófago (especialmente las determinadas por reflujo gastroesofágico) se incrementan significativamente del número de células T, de modo paralelo al de eosinófilos, pero no de neutrófilos<sup>81</sup>. En nuestra experiencia hemos constatado que el epitelio esofágico humano contiene linfocitos T (CD3<sup>+</sup>) en condiciones basales (unas 12.000 células/mm<sup>3</sup>), y que su densidad aumenta ligeramente (aproximadamente al triple de su valor) en presencia de reflujo gastroesofágico. Pero en la EE se produce un intenso incremento del número de estas células (que multiplican por 7 su densidad basal). Un trabajo previo estimaba de modo semi-cualitativo que el número de células CD3<sup>+</sup> en la EE superaba en 4 veces el valor normal<sup>82</sup>. La aplicación de técnicas cuantitativas estereológicas nos ha permitido conocer que las experiencias disponibles hasta ahora infraestimaban las cifras reales.

Si atendemos a las dos poblaciones fenotípicamente distintas de linfocitos T, tanto las células CD4<sup>+</sup> como CD8<sup>+</sup> se incrementan de modo proporcional y paralelo al del total de linfocitos T en la ERGE y en la EE. Por otro lado, en nuestras investigaciones hemos observado que los linfocitos T tienden a localizarse también en las zonas más profundas del epitelio, creando un gradiente de densidad celular según se aproximan al estrato regenerativo. Este patrón de distribución paralelo al de las células de Langerhans permitiría el establecimiento de relaciones anatómicas y funcionales entre ambos tipos de componentes del sistema inmunológico epitelial que se traducirían en el proceso de

presentación de antígenos restringido por MHC. Respecto a esta disposición arquitectural de la células  $CD8^+$  habían sido publicados previamente datos opuestos<sup>59,82</sup>.

En algunos de nuestros pacientes hemos llegado incluso a apreciar densas agrupaciones de células  $CD4^+$  y  $CD8^+$  de localización intraepitelial, que remedan la organización de linfocitos en folículos linfoides, dotados además de células dendríticas. La Figura 44 representa uno de estos folículos. No tenemos constancia de la existencia de tales folículos en los epitelios de otras localizaciones anatómicas.



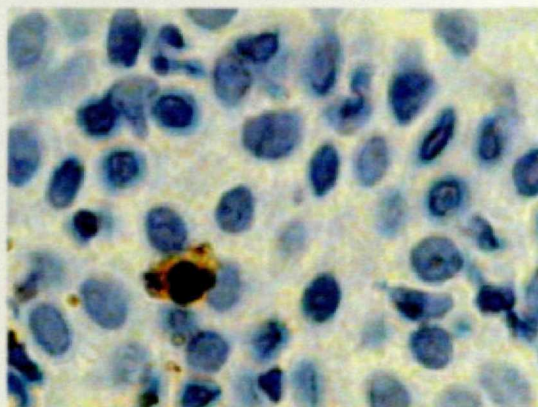
**Figura 44:** Inmunotinciones para CD8, CD4 y CD1a de cortes seriados de epitelio esofágico del paciente número 22, que muestra la organización de linfocitos T y células de Langerhans en lo que se asemeja a un folículo linfoide de localización intraepitelial.

Mediante estereología hemos determinado que la población linfocitaria más abundante en el epitelio esofágico humano es  $CD8^+$ , representando las células  $CD4^+$  tan solo un tercio de las anteriores. Esta distribución es paralela a la que se conoce para la mucosa intestinal<sup>189</sup>, donde también existe un claro predominio de linfocitos  $CD8^+$ , dato que no era tan claro en el epitelio esofágico, tal vez debido a la expresión de CD4 en la superficie de la células de Langerhans<sup>182</sup>.



El tratamiento esteroideo tópico produjo una marcada reducción del número del linfocitos T ( $CD3^+$ ) esofágicos, y de sus subpoblaciones  $CD4^+$  y  $CD8^+$ . Sin embargo, su número no descendió hasta el valor del esófago normal, sino que permaneció ligeramente más elevado, en valores similares a los que se observan en la ERGE, y esto pese a la normalización de las lesiones histológicas y a la desaparición del infiltrado por eosinófilos. De este modo, tras el tratamiento de la EE con esteroides tópicos, parece quedar una pequeña población de células T, en principio quiescentes, pero que podrían representar un mecanismo de memoria inmunológica local frente a ulteriores exposiciones a los antígenos responsables de la enfermedad, que podrían justificar la reaparición del infiltrado por eosinófilos un tiempo después de suspender el tratamiento farmacológico.

La *lamina propria* del esófago contiene en condiciones normales unos pequeños agregados de linfocitos B <sup>182</sup>, pero nuestra experiencia nos muestra que el epitelio esofágico es, al contrario de lo que ocurre con los linfocitos T, claramente deficitario en estas células. En las secciones estudiadas de tejido esofágico normal no encontramos ninguna célula con inmunorreactividad frente a anti-CD20, y su presencia en la ERGE y en la EE fue tan solo testimonial (Figura 45), sin demostrar diferencias estadísticamente significativas entre las 3 condiciones ensayadas.



**Figura 45.** Linfocito B (marcado con un anticuerpo monoclonal murino anti CD20) en el epitelio esofágico

Respecto a la posible acción sobre el mecanismo fisiopatológico de la EE de los elevados niveles de IgE total circulante que presentaban el 55,5 % de nuestros pacientes (y que es condición habitual de los casos de EE comunicados en la literatura), nuestro estudio evaluó mediante inmunohistoquímica la presencia de células en el epitelio esofágico con capacidad de secreción local de dicha Ig E. De este modo pudimos demostrar en nuestros pacientes con EE la existencia de células de núcleo redondeado y excéntrico, con cromatina “en rueda de carro” y con citoplasma intensamente reactivo frente a un anticuerpo policlonal anti-Ig E, que correspondían con toda probabilidad a células

plasmáticas. Estas células, que, a diferencia de los linfocitos B de los que proceden, no expresan sobre su superficie CD20<sup>190</sup>, serían las responsables de la secreción *in situ* de esta inmunoglobulina con importante participación en las respuestas inunoalérgicas. Ni en los controles utilizados ni en los pacientes con EE tras el tratamiento se observó positividad frente a la misma tinción, lo que refuerza más la naturaleza alérgica de la inflamación esofágica en la EE.

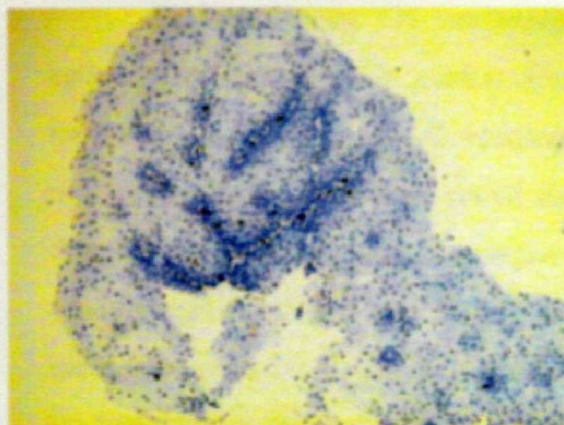
Además todas nuestras muestras fueron expuestas a un anticuerpo monoclonal frente a CD23 (receptor de superficie de baja afinidad para la fracción constante de Ig E (FcεRII)<sup>190</sup>, presente en mastocitos, linfocitos B y otras células), pero ni en los controles utilizados ni en los pacientes con EE pudimos demostrar la presencia de elementos celulares que mostrasen reactividad frente a este anticuerpo.

El perfil inmunohistoquímico de los elementos celulares presentes en el epitelio esofágico nos permite proponer que en la EE existe un mecanismo fisiopatológico mixto que depende tanto de la inmunidad celular como de la humoral. Este hecho, sugerido pero no demostrado previamente, establece un paralelismo notable entre la EE y otras enfermedades alérgicas como el asma o las reacciones urticariales, en las que la Ig E sérica participa en su fisiopatología.

### 5.3. MASTOCITOS EN EL EPITELIO ESOFÁGICO.

Las células efectoras finales del mecanismo inmunopatológico de la EE son los propios leucocitos eosinófilos, pero también pueden desarrollar una función importante los mastocitos o células cebadas, que, una vez activados por distintos estímulos, especialmente por Ig E, liberan el contenido de sus gránulos al espacio extracelular. Por esta razón quisimos valorar la presencia de estas células en nuestros pacientes y en las muestras utilizadas como controles; para ello se realizó una tinción de inmunoperoxidasa frente a Triptasa, enzima característica y exclusiva de este tipo celular<sup>85</sup>. Pudimos conocer que en condiciones normales el esófago humano puede presentar una población residente de mastocitos, que pudimos cuantificar en unas 2700 células/mm<sup>3</sup> (Figura 46). Este número se incrementa notablemente en caso de ERGE (hasta unas 4 veces el valor basal), pero en la EE multiplica por más de 20 veces su número (Figura 47).





**Figura 46.** Epitelio esofágico normal que muestra un pequeño número de mastocitos que tienden a localizarse en la porción basal del mismo (inmunoperoxidasa frente a triptasa x40).



**Figura 47.** Mucosa esofágica de un paciente con EE. Se aprecia un marcado aumento en la densidad de mastocitos infiltrantes, que se localizan fundamentalmente en la porción basal y media del epitelio. Nótese que la lámina propia subyacente prácticamente carece de ellos (Anti-triptasa, x100).

Tras el tratamiento con esteroides tópicos los pacientes con EE mostraron una clara reducción de la densidad de mastocitos que infiltraban el epitelio esofágico respecto a la inicial (desde 48.260 hasta 13.090 células/mm<sup>3</sup>). Aunque la densidad celular se redujo a un tercio de la inicial, tras el tratamiento persistían en el epitelio esofágico un número de mastocitos discretamente superior al observado en la esofagitis péptica, y bastante más alto que en los controles normales. A diferencia de los que ocurría con los linfocitos T, el mantenimiento de una densidad relativamente elevada de mastocitos sería una prueba más del carácter alérgico del proceso, y de la hiperreactividad latente que posee la mucosa de los pacientes con EE. El mantenimiento de un número elevado de mastocitos en el epitelio esofágico tras el tratamiento esteroideo tópico podría ser explicado por el hecho de que, al igual que ocurre en los pacientes con otros procesos atópicos, también en la EE las células inmunorrectivas pueden mostrar una resistencia relativa a la apoptosis que inducirían los corticoides sobre ellas<sup>191-193</sup>. Desconocemos si el mantenimiento del tratamiento durante un periodo más prolongado produciría la total normalización del infiltrado mastocitario, pues no existe experiencia alguna comunicada en este sentido. Por otro lado, existen datos en nuestro estudio que sugieren que la activación de los mastocitos en la EE posee carácter local, dado que todos los pacientes estudiados mostraban concentraciones de triptasa sérica dentro de límites normales, a diferencia de lo que ocurre en la anafilaxia en el momento agudo o en las mastocitosis sistémicas en periodos intercrisis.



El Leucotrieno C4 contenido en los gránulos de los mastocitos es un potente estimulador directo de la contracción del músculo liso, que también puede producirse a través de la activación de la acetilcolina por la histamina<sup>89</sup>. Por todas estas razones, el mastocito puede constituirse en un eje principal de la fisiopatología de la EE, y contribuir de manera importante a los trastornos motores asociados a esta enfermedad. De este modo, y aunque el leucocito eosinófilo es el que da nombre a la EE debido a su facilidad para identificarse en las tinciones convencionales, no son menos importantes las funciones de los linfocitos ni de los mastocitos, y tal vez por eso sería más adecuada la denominación de la enfermedad como "*Esofagitis Alérgica*".

El epitelio esofágico está constituido por estratos celulares que establecen estrechas uniones entre sus componentes. La organización de una respuesta inmune local requiere de la expresión tisular de un conjunto de sustancias proinflamatorias e inmunorreguladoras de las que no dispondrían las células epiteliales esofágicas. Por esta razón, el epitelio esofágico en condiciones normales no posee los elementos necesarios que propiciarían el adecuado ambiente humoral para el establecimiento de fenómenos inmunoalérgicos locales. Es nuestra hipótesis que el mastocito, que posee en sus gránulos todos los elementos inmunorreguladores capaces de iniciar y mantener una respuesta inmunológica<sup>194</sup>, desempeña una función central en la fisiopatología de la EE en tanto que permite el ambiente humoral propicio para el reclutamiento de células inmunocompetentes y el ulterior desarrollo de los fenómenos inmunopatológicos que conducen a la EE y a sus manifestaciones clínicas.

Pero en otro orden de cosas, la participación de mastocitos en los mecanismos celulares de la esofagitis alérgica permitiría la utilización de fármacos estabilizadores de su membrana, como el cromoglicato sódico o el nedocromil, y amplían de este modo el arsenal terapéutico farmacológico en la EE.



## 6. BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA EE.

La biología del eosinófilo está estrechamente regulada por los linfocitos T, a través de distintos productos, como IL-5. El desarrollo de eosinofilia sanguínea y la infiltración eosinófila en el pulmón en respuesta a alérgenos depende de modo integral de estos linfocitos. Así, los eosinófilos de ratones atímicos (carentes casi por completo de linfocitos T) responden de manera alterada a alérgenos y parásitos, y poseen comportamientos anómalos en las situaciones de inflamación <sup>44</sup>.

IL-5 posee diversos efectos estimuladores sobre los eosinófilos, al promover su proliferación, maduración, migración, activación, degranulación y supervivencia, y ha sido claramente implicada en la fisiopatología del asma alérgico <sup>75,93</sup>. El desarrollo de modelos murinos de EE había demostrado el papel central que IL-5 desempeñaba en la fisiopatología de esta enfermedad, en tanto que ratones deficientes para esta citocina no desarrollaban eosinofilia esofágica cuando eran expuestos a aeroalérgenos por vía inhalatoria <sup>61</sup>. Del mismo modo, la sobreexpresión de IL-5 por las células T incrementa los niveles de eosinófilos en la *lamina propria*, y los ratones que sobreexpresan IL-5 presentaban un incremento en la eosinofilia circulante y en la *lamina propria* del esófago <sup>18,31</sup>.

Estos hallazgos permitían afirmar que la EE estaba mediada por una respuesta inmunológica de tipo T<sub>H</sub>2, en la que IL-5 desempeñaba una función fundamental en el desarrollo de la eosinofilia esofágica. Nuestros datos corroboran esta hipótesis para al menos un grupo amplio de pacientes, en los que hemos podido determinar una sobreexpresión génica de IL-5 previa al tratamiento. Un estudio reciente analiza la expresión de distintas citocinas en el epitelio esofágico de niños con EE comparada con controles "sanos" y define igualmente una sobreexpresión media IL-5 en la EE, pero no aporta datos individuales de lo que ocurre con cada uno de los 11 pacientes que analiza <sup>79</sup>.

Sin embargo, en 2 de nuestros 8 pacientes analizados no pudimos detectar cambios en la expresión génica de IL-5 tras el tratamiento, a pesar de que éste se había mostrado eficaz en la resolución de la eosinofilia epitelial y sus consecuencias derivadas. Este hecho podría indicar que, en al menos un pequeño subgrupo de pacientes, IL-5 no participaría o no sería suficiente por sí misma para el desarrollo de la infiltración eosinofílica, y

necesitaria el concurso de otras citocinas. **IL-3** y **GM-CSF** han sido también directamente implicados en la proliferación y acumulación de eosinófilos en respuesta a alérgenos, y, junto con IL-5, regulan la diferenciación post-mitótica de los eosinófilos, incluidas su supervivencia, su activación y su capacidad de respuesta a otras señales<sup>18,44</sup>. Además, los eosinófilos tisulares y aquellos activados son capaces de producir estas citocinas, especialmente GM-CSF, por lo que podría existir un proceso autocrino que, al menos parcialmente, sería el responsable de la supervivencia y la acumulación de eosinófilos en los tejidos. Hasta la fecha no existe ningún estudio que determine la expresión génica de estas citocinas en la EE, pero si contamos con algunas experiencias obtenidas de modelos animales que apoyarían este hecho.

Las respuestas de tipo  $T_H2$  están mediadas fundamentalmente por linfocitos T *helper*  $CD4^+$ . Nuestros resultados definen en la EE un infiltrado linfocitario T predominantemente  $CD8^+$ , al igual que otras observaciones previas<sup>82</sup>. Los linfocitos T  $CD8^+$  clásicamente secretan citocinas de perfil  $T_H1$ , de las que  $IFN\gamma$  y  $TNF-\alpha$  son claros exponentes. Straumann et al. encontraron niveles elevados de  $TNF-\alpha$  en las biopsias esofágicas de 8 pacientes adultos con EE<sup>103</sup>, y Gupta et al. han comunicado un aumento de la expresión génica de  $IFN-\gamma$  en una serie de niños afectados de la enfermedad<sup>79</sup>. De este modo, deberíamos condiserar la posibilidad de que la cascada inflamatoria mediada por  $T_H1$  también pueda desempeñar alguna función en la patogénesis de la EE.

Entre las sustancias quimioatrayentes para los eosinófilos, eotaxina-1 ha sido la quimiocina más estudiada en el aparato digestivo. Su función se ejerce sobre los tejidos, y su expresión no influye sobre la eosinofilopoyesis en la médula ósea ni sobre los niveles circulante de estos leucocitos<sup>63</sup>, pero sus niveles tisulares se correlacionan con la gravedad clínica de diferentes enfermedades inflamatorias de las vías aéreas<sup>98-100</sup>. La ausencia de eotaxina bloquea el reclutamiento de eosinófilos en el tracto gastrointestinal, y aumenta en consecuencia el número de eosinófilos circulantes. Por tanto, eotaxina es crítica para el reclutamiento de eosinófilos en el tracto gastrointestinal, incluso en presencia de niveles elevados de IL-5<sup>63</sup>.

En el subgrupo de pacientes de nuestra serie en el que se determinó la expresión de eotaxina-1 (CCL11) encontramos resultados interesantes: Mientras que la mitad de ellos mostraba una marcada sobreexpresión de la misma antes del tratamiento (al igual que



aparecía en los datos del estudio de Gupta et al.<sup>79</sup>), en los casos restantes dicha sobreexpresión resultó ser muy moderada, e incluso ausente. Estos datos obligan a considerar la posible acción de otras quimiocinas en el proceso de reclutamiento de eosinófilos hacia el esófago<sup>103</sup>. Así, un estudio reciente indica también una sobreexpresión de RANTES paralelamente a la de eotaxina-1 en los pacientes con EE<sup>79</sup>, mientras que la expresión de eotaxina-2 y eotaxina-3 aparecía inhibida respecto a los controles. Contrariamente, otro estudio actual define que el gen codificante de eotaxina-3 (CCL26) era el más intensamente inducido en pacientes con EE respecto a individuos sanos<sup>80</sup>.

La heterogeneidad de los datos presentados expresa posiblemente la propia heterogeneidad interindividual en los mecanismos moleculares implicados en la fisiopatología de la EE, en la que IL-5 y las distintas formas de eotaxina presentarían efectos sinérgicos entre ellos mismos y con otras citocinas menos estudiadas en la regulación de los niveles de eosinófilos gastrointestinales. Aunque los fenómenos inflamatorios observados en la EE sean comunes para los distintos pacientes, las cascadas de mediadores inflamatorios que conducen a ellos pueden no ser idénticas en todos los casos, y los trastornos morfológicos y funcionales observados en la EE representarían la convergencia final de distintas formas de activación de los mecanismos de la inflamación. Igualmente, deberíamos considerar que la heterogeneidad de los resultados podría estar relacionada con el tiempo de evolución de la enfermedad o con el momento de la última exposición al alérgeno responsable de la inflamación epitelial. Estas cuestiones deberán ser dilucidadas mediante posteriores estudios.

## 8. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

La evaluación de las manifestaciones clínicas de cada paciente se realizó mediante un sencillo cuestionario en el que se recogían distintos aspectos de la función deglutoria, valorados según puntuaciones numéricas. Esta valoración se repitió en el mes después de finalizado el tratamiento y comprobada la resolución histológica del infiltrado eosinofílico.

La manifestación clínica más frecuente en nuestros pacientes (70%) fue disfagia de larga evolución, de curso crónico y con periodos intercalados de ausencia de síntomas. La impactación de alimento en esófago, presente en un gran número de casos (66%), precisó

en la mayor parte de ellos resolución endoscópica urgente. Esta forma de presentación acontece en más del 20% de los casos infantiles de la enfermedad <sup>72,195,196</sup>, pero en una proporción más elevada en el caso de pacientes adultos. Una revisión de la literatura más reciente estima que las impactaciones de alimento en el esófago acontecen entre el 56 y el 88% de los adultos afectos de esofagitis eosinofílica <sup>59,115,197</sup>, datos concordantes con los obtenidos en nuestra serie (83,3%). Sólo en 2 pacientes se presentaron síntomas diferentes, a modo de pirosis, dolor retroesternal o sensación opresiva en epigastrio, sin diferencias en las características endoscópicas o manométricas respecto al resto de pacientes.

El tiempo de evolución de los síntomas hasta el diagnóstico fue bastante prolongado, con una media de 94.7 meses. Un paciente refería clínica desde hacía más de 30 años, pero en otro caso los síntomas había aparecido días antes de su primer episodio de impactación alimentaria.

Además del largo periodo sintomático que mostraron nuestros pacientes hasta el diagnóstico de su enfermedad, resulta llamativo el hecho de que 3 de cada 4 pacientes habían sido sometidos a exploración endoscópica en algún momento de su evolución. De este dato se extraen dos conclusiones claras: Por un lado, que la EE es una enfermedad desconocida por muchos médicos especialistas de Aparato Digestivo y endoscopistas. Por otro lado, que los hallazgos endoscópicos muchas veces son poco llamativos. Uniendo ambos hechos, no resulta extraño que nuestros pacientes hayan presentado síntomas durante varios años y que, en uno de ellos, se llegaran a realizar hasta 5 endoscopias (la mayoría para resolver impactaciones alimentarias) antes del diagnóstico de su enfermedad.

La mayoría de las publicaciones sobre EE existentes en la literatura son descripciones de casos aislados o de series cortas que inciden en las manifestaciones clínicas y en los hallazgos endoscópicos que muestran los pacientes. En una amplia revisión de distintas publicaciones que recogía unos 200 pacientes, Fox <sup>40</sup> recopiló los distintos síntomas clínicos que se asociaban a esta entidad, y observó claras diferencias en la presentación clínica entre niños y adultos (Tabla 9), que también fueron advertidas en otros estudios más recientes <sup>129,198,199</sup>.



**Tabla 9.** Síntomas asociados con Esofagitis Eosinofílica (Tomado de Fox V, 2002)

Adultos	Disfagia Impactación de alimento Vómitos, emesis Dolor Torácico
Niños	Disfagia Impactación de alimento Vómitos, emesis, regurgitación Dolor torácico Náuseas Pirosis Hipersalivación Comportamiento alimentario aversivo, hipocrecimiento Dolor abdominal epigástrico Síntomas respiratorios: Tos, estridor, sinusitis, obstrucción, neumonía

No se han analizado los motivos que explican estas diferencias, pero presumiblemente está en estrecha relación con el tiempo de evolución de la enfermedad, o lo que es lo mismo, con la duración de la exposición del esófago al efecto del infiltrado eosinofílico. Los 2 pacientes de nuestra serie con síntomas del tipo "infantil" mostraban un menor tiempo medio de evolución de su enfermedad que el resto de pacientes, aunque sin significación estadística, tal vez por el escaso número de pacientes en aquel grupo.

El único trabajo publicado que analiza la evolución clínica a largo plazo de los síntomas asociados a la EE <sup>115</sup> revela que la infiltración eosinofílica persiste a lo largo del tiempo en todos los pacientes sintomáticos, y afirma que, en ausencia de tratamiento, se produciría un deterioro irreversible de la función motora del órgano debido a la fibrosis de su pared secundaria a la persistencia de los fenómenos inflamatorios. Esta fibrosis ocasionaría una reducción progresiva de la luz esofágica, con disfagia e impactaciones alimentarias cada vez más frecuentes. Por esta razón, los autores del trabajo recomiendan como tratamiento de elección las dilataciones esofágicas, opinión en absoluto compartida por el autor del presente estudio. En la actualidad no existen dudas de que la evolución a largo plazo de la inflamación péptica de la mucosa esofágica en la ERGE puede ser la estenosis cicatricial de la luz del órgano debida a fibrosis subepitelial. Lo mismo ocurre en la evolución de la cicatrización de las lesiones por cáusticos. La inflamación de la mucosa esofágica de origen alérgico probablemente suponga idénticos fenómenos cicatriciales, pero éstos no han podido ser comprobados en casos reales de esofagitis eosinofílica, debido a la dificultad técnica para obtener sistemáticamente biopsias esofágicas mediante un fórceps estándar que permitan el estudio de la *lamina propria* y de la submucosa del

órgano. Sin embargo, existen observaciones aisladas en las que sí se obtuvo tejido subepitelial y se pudo analizar su contenido en leucocitos eosinófilos y en colágeno<sup>78,200</sup>, describiendo en todos los casos depósito de tejido fibroso en el espacio subepitelial.

Pero las diferencias en la forma de presentación clínica de la enfermedad entre niños y adultos probablemente no se deban a la fibrosis de los tejidos subepiteliales, sino a la diferente expresión manométrica de la enfermedad según el tiempo de evolución. El tiempo necesario para que un paciente con reflujo gastroesofágico patológico desarrolle estenosis cicatriciales significativas en el esófago que le ocasionen impactación alimentaria es de varios años<sup>201</sup>, presumiblemente más de los que los jóvenes pacientes con diagnóstico de esofagitis eosinofílica llevan padeciendo el fenómeno inflamatorio crónico esofágico. Por tanto, y aún asumiendo la posible existencia de depósitos subepiteliales de tejido fibroso, no parece plausible que la fibrosis del órgano ocasione la mayor frecuencia de impactaciones alimentarias en los pacientes adultos. Por otro lado, la fibrosis tisular es un fenómeno irreversible una vez establecido, y todos nuestros pacientes refirieron mejoría clínica tras el tratamiento, paralelamente a la normalización de la función motora esofágica.

De este modo, las formas menos evolucionadas, que manométricamente presentan ondas peristálticas hipercinéticas, raramente cursarían con impactaciones alimentarias<sup>202</sup>, y por el contrario, padecen dolor torácico, disfagia crónica<sup>203</sup>, pirosis<sup>129,204</sup> y regurgitación, al igual que ocurre en la peristalsis sintomática y en el espasmo esofágico difuso<sup>205</sup>. Por el contrario, las formas con más tiempo de evolución mostrarán esófagos hipoperistálticos o adinámicos, más proclives a la impactación de alimento.

El tratamiento con propionato de fluticasona tópico demostró objetivamente su eficacia para mejorar la clínica de disfagia en nuestros pacientes. Este hecho se manifestó, además porque los pacientes no volvieron a presentar impactaciones de alimento en esófago (previo al tratamiento presentaban una media de 12.23 episodios al mes) y redujeron considerablemente los fenómenos de regurgitación), por un menor tiempo empleado para comer y cenar (de 41 minutos a tan solo 27.5) y por precisar menos cantidad de líquido con las comidas. Todos estos fenómenos son una clara consecuencia de la normalización de la función motora esofágica, y fueron interpretados por los pacientes como una significativa mejoría en su calidad de vida. Por entrar en detalles, cuando se



evaluó la capacidad para deglutir de forma individualizada alimentos de distinta consistencia pudimos objetivar una mejoría significativa para todos los alimentos sobre los que se interrogaba en nuestra encuesta, pero ésta fue especialmente importante para aquellos alimentos de consistencia más dura, como la carne de ternera, la manzana o la pechuga de pollo. Hasta la fecha no había sido evaluada la eficacia clínica del tratamiento de la EE con propionato de fluticasona mediante parámetros objetivos cuantificables, ya que los pocos autores que han considerado este aspecto se habían limitado a preguntar al paciente por teléfono si estaba mejor clínicamente o no <sup>107</sup>. De esta manera, la valoración de la eficacia clínica del tratamiento es una de las aportaciones más novedosas que ofrece el presente trabajo.

## 9. HIPÓTESIS FISIOPATOLÓGICA PARA LA EE.

A partir de las evidencias disponibles, obtenidas de experiencias previas, de la extrapolación de datos conocidos de la fisiopatología de las células del sistema inmunológico y otras enfermedades alérgicas y de los resultados del presente estudio estamos en condiciones de proponer una hipótesis fisiopatológica para la EE.

Hoy en día no existen dudas sobre la naturaleza alérgica y crónica de la enfermedad, y a través de modelos animales conocemos que la inflamación del esófago está determinada en gran medida por IL-5 <sup>206</sup>, con un patrón de inflamación y perfil de secreción de citoquinas similar al encontrado en las enfermedades alérgicas de las vías aéreas <sup>207</sup> y de la piel <sup>208</sup>, que responde satisfactoriamente a tratamientos eficaces en el asma <sup>83</sup>. Sin embargo, experiencias recientes nos llevan a considerar aspectos diferenciales de la EE con estas otras enfermedades. También existen diferencias interindividuales entre los distintos pacientes afectados de EE que hacen suponer que los mecanismos fisiopatológicos íntimos no son exactamente los mismos en todos los casos.

### 9.1. SENSIBILIZACIÓN ANTIGÉNICA EN LA EE.

Pese a que la EE puede considerarse una forma de alergia del tubo digestivo <sup>20:21:209</sup>, cada vez existen más evidencias a favor de que la sensibilización antigénica no se produce únicamente a través de la mucosa del esófago: Además del modelo experimental murino de Mishra *et al* <sup>61</sup> que desarrollaba EE tras la exposición antigénica en las vías aéreas superiores, una amplia proporción de pacientes afectados de EE (el 81.5% de nuestra

serie) procedentes de todos los países desarrollados presentan múltiples sensibilizaciones a inhalantes ambientales. En este sentido, también ha sido comunicada la evolución paralela del infiltrado eosinofílico esofágico con la exposición ambiental a pólenes en pacientes sensibilizados <sup>163,210</sup>. Pero pese a que la sensibilización a pólenes en pacientes con EE es común, la exacerbación de su clínica durante la época de polinización es rara <sup>163</sup>.

Por otro lado, también se ha demostrado la sensibilización a través de la piel y el posterior desarrollo de EE <sup>211</sup> en ratones sensibilizados por vía epicutánea, por un mecanismo dependiente de IL-5.

En pacientes sensibilizados a aeroalergenos es frecuente también la sensibilización a alimentos, hecho observado en el 67 % de nuestra serie, y comunicado en la literatura en más del 50% de los pacientes con EE. Parece lógico pensar que exista una clara relación entre estos dos tipos de sensibilizaciones, pues los alimentos de origen vegetal pueden presentar fácilmente reacciones cruzadas con los pólenes, y así ha sido observado especialmente con cereales como el trigo y centeno, y con polen de gramíneas <sup>69</sup>. Entre los alergenitos alimentarios más frecuentemente encontrados destacan los de origen vegetal, la leche y los huevos.

En la actualidad asistimos a un aumento en la incidencia de las manifestaciones de alergia alimentaria, y a una expansión de los posibles antígenos desencadenantes <sup>21</sup>. Por esta razón resulta cada vez más necesario el estudio de sensibilizaciones alérgicas en estos pacientes <sup>212,213</sup>, y la EE no constituye una excepción. Las pruebas diagnósticas en estos pacientes se han fundamentado tradicionalmente en dos tipos de estudios, basados en la detección de Ig E específica frente a determinados alimentos e inhalantes, a partir de su detección y cuantificación en suero o con los test cutáneos de hipersensibilidad inmediata o *prick test*. Ambos tipos de estudios son capaces de demostrar múltiples sensibilizaciones en los pacientes con EE, y a lo largo de la literatura existen documentadas diferentes experiencias con los mismos en la evaluación de la alergia alimentaria asociada a esta enfermedad <sup>214-216</sup>. Sin embargo, y aunque las dietas elementales (carentes de capacidad antigénica) habían demostrado su eficacia en la resolución de la EE, la exclusión de los alimentos identificados como sospechosos por las pruebas de alergia no ofrecía los mismos resultados. Este hecho nos lleva a considerar que los mecanismos fisiopatológicos implicados en la EE no debían estar exclusivamente relacionados con la acción de la Ig E.



y en este sentido, los resultados aportados por nuestro estudio resultan relevantes: El mecanismo fisopatológico de la EE es de tipo mixto e implica respuestas inmunoalérgicas en las que participan tanto la inmunidad celular como la inmunidad humoral mediada a través de Ig E.

El estudio de las enfermedades atópicas condicionadas por un trastorno de la inmunidad celular ha ofrecido mayores complicaciones que el de las manifestaciones de hipersensibilidad de tipo humoral. Los métodos de análisis de las reacciones de hipersensibilidad retardada mediada por células (Pruebas epicutáneas o *Patch test*) han sido aplicados a la dermatitis atópica (un trastorno de etología mixta IgE y no-Ig E mediada)<sup>217,218</sup> determinada por diferentes alimentos (especialmente leche, trigo y frutos secos<sup>219</sup>) y, muy recientemente, a la EE<sup>216</sup>, con resultados poco concluyentes. En este último estudio, la eliminación de los alimentos a los que se demuestra sensibilización mediante *prick test* y/o pruebas epicutáneas realizados a pacientes con EE era tan amplia que suponía un verdadero riesgo de privación nutricional<sup>220</sup>, aunque conseguía el control de la inflamación esofágica en una buena proporción de casos.

La identificación de los antígenos causales es fundamental para el tratamiento de la EE<sup>130</sup>. Para ello debe estudiarse, además de las manifestaciones de hipersensibilidad mediada por Ig E, la sensibilización de clones de linfocitos T responsables de los mecanismos de hipersensibilidad retardada, mediante *patch test*. Los antígenos a ensayar normalmente son múltiples, y para ellos no siempre existen presentaciones comerciales, debiendo ser preparados individualmente por el médico investigador. Además del problema de la falta de estandarización, con ellos existe escasa experiencia en el estudio de la alergia alimentaria. Los antígenos a estudiar mediante *patch test* se seleccionarán a partir de los resultados de las pruebas cutáneas de *prick*, de la inmunodetección de Ig E sérica y de los datos de la historia clínica de cada paciente.

Pero además del control de la exposición antigénica a alimentos o a inhalantes, en vista de los datos previamente expuestos, para un buen control de la EE será necesario controlar óptimamente todas las manifestaciones atópicas que presente el paciente, como su asma o su dermatitis atópica, además de las alergias alimentarias.

La sensibilización antigénica en la EE, puede, por tanto, iniciarse por vía digestiva, pero también por vía respiratoria y tal vez por vía epicutánea. Este hecho confiere a la EE un aspecto de enfermedad sistémica en la que la sensibilización no es un fenómeno local, sino un evento sistémico que conduciría a la eosinofilopoyesis en la médula ósea con incremento en la expresión de IL-5<sup>221</sup>, y sus mecanismos de sensibilización podrían ser enmarcados en el concepto de la "marcha atópica"<sup>222</sup>. De este modo, la reexposición al antígeno a través de la mucosa esofágica conduce a la activación de los clones de linfocitos T sensibilizados y a fenómenos inflamatorios locales, que pueden ser eficazmente controlados mediante tratamiento esteroideo tópico de acción local.

## 9.2. MECANISMOS DE LA INFLAMACIÓN ESOFÁGICA EN LA EE.

El papel central que desempeña IL-5 en el reclutamiento eosinofílico esofágico demostrado mediante modelos animales de experimentación y corroborado por nuestros resultados, las características atópicas de los pacientes y la similitud con el asma bronquial, han llevado a distintos autores a considerar que la EE está determinada por un mecanismo inmunológico de tipo  $T_H2$ <sup>79,103</sup>. Aunque nuestros estudios moleculares son compatibles con esta hipótesis, llama poderosamente la atención la presencia predominante de células  $CD8^+$  sobre las  $CD4^+$  (éstas últimas representan la población  $T_H2$ ) en el infiltrado intraepitelial de nuestros pacientes, y este hecho unido a la puntual identificación de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  en algunos casos de EE<sup>79,103</sup>, nos llevan a considerar también un posible componente  $T_H1$  en la patogenia del trastorno. Aún así, y aunque la función principal de los linfocitos  $CD8^+$  es la citotoxicidad restringida por MHC de clase I, su actuación en la EE podría ser distinta. De este modo, mantienen su fenotipo pero su función citotóxica directa ( $T_C1$ ) parece estar reducida y, en cambio, actuarían como células T citotóxicas-2 ó  $T_C2$ . Este cambio funcional se debería teóricamente a la presencia de IL-4 (que podría proceder de los linfocitos T  $CD4^+ T_H2$  del infiltrado epitelial) la cual induce al linfocito  $T_C2$  a producir más IL-4 e IL-5 con una función fundamental en el reclutamiento de eosinófilos<sup>13,14,28</sup>.

El efecto a distancia de IL-5 induciría a la médula ósea para la síntesis y maduración de leucocitos eosinófilos, que, a través de la sangre (y produciendo eventualmente eosinofilia), llegarían hasta la pared del esófago, donde van siendo reclutados mediante la acción combinada de diferentes sustancias eosinofilotropas (como la propia IL-5, eotaxinas y RANTES<sup>79</sup>).



Paralelamente al reclutamiento de eosinófilos, también llegan hasta la pared esofágica numerosos mastocitos, cuyo desarrollo y reclutamiento está estimulado por la acción de los linfocitos T y de IL-3 e IL-4 por ellos producidas <sup>194</sup>. La liberación de histamina y otros numerosos mediadores desde los mastocitos responde a la estimulación directa de su receptor de alta afinidad por Ig E, pero posiblemente también por los propios antígenos presentes en el medio y por una amplia variedad de agentes no inmunológicos, de manera similar a lo que sucede en otras manifestaciones atópicas.

### **9.3. ORIGEN DE LAS ALTERACIONES MORFOLÓGICAS Y FUNCIONALES.**

La activación de los eosinófilos permitiría la acción de éstos tanto sobre el epitelio como sobre las capas musculares del esófago. La degranulación de las proteínas citotóxicas del citoplasma ocasiona daño directo sobre los componentes epiteliales de la mucosa esofágica, tanto más intenso cuanto más denso es el infiltrado y mayor es la activación de los eosinófilos. La función de los eosinófilos no es otra que la destrucción de los antígenos agresores locales que han iniciado la respuesta inmunoalérgica y que se localizan, obviamente, en la superficie del epitelio, en contacto con la luz del órgano. Por este motivo, los eosinófilos se dispondrían topográficamente en un gradiente de densidad celular de tal modo que son más abundantes en la superficie del epitelio. Paralelamente acontece también la destrucción de la superficie del epitelio esofágico, que en los grados más intensos se desprende en láminas empujado por la coalescencia de microabscesos subyacentes constituidos por eosinófilos. Los cambios proliferativos que muestra el análisis histopatológico del epitelio representan la respuesta regenerativa o de reparación tisular.

Las sustancias contenidas en los gránulos de los eosinófilos, pero también en los de los mastocitos, ejercen así mismo acciones sobre los componentes neuromusculares de la pared del órgano: La proteína mayor básica (MBP) del eosinófilo contrae intensamente las fibras musculares lisas de los dos tercios inferiores del esófago actuando sobre receptores para acetilcolina tipo M2, al igual que Leucotrieno C4 contenido en los mastocitos. La histamina y el resto de mediadores de estas células son capaces de alterar la estabilidad de la membrana neuronal de los plexos mientéricos, y de retroalimentar el proceso mediante la activación de los eosinófilos. El resultado de esta cascada de acontecimientos es un grave desorden de la capacidad motora del esófago, que en una primera fase mostrará un comportamiento hipercinético o espástico (manifestado clínicamente por dolor y síntomas

de ERGE) y luego evolucionará hacia un trastorno hipo o aperistáltico, por agotamiento de la capacidad funcional de los componentes musculares (con frecuentes episodios de impactación alimentaria).

La combinación de las lesiones en la mucosa del órgano y del efecto del trastorno neuromuscular en el calibre del esófago se traducirían en el amplio rango de hallazgos endoscópicos que puede ser observado en la EE.

La aplicación de tratamiento esteroideo tópico restaura la arquitectura histológica del epitelio esofágico al revertir los fenómenos inflamatorios, y esto se traduce en una normalización de la capacidad motora del órgano. Sin embargo, y dada la naturaleza inmunoalérgica de la EE y la relativa capacidad de escape de los linfocitos T<sup>223</sup> y los mastocitos<sup>191:193</sup> al efecto proapoptótico inducido por los corticoides<sup>192</sup>, se mantendrían en un escaso número en el espesor del epitelio esofágico, manteniendo la capacidad de responder rápidamente ante una nueva exposición antigénica.

## 10. TRATAMIENTO DE LA E.E.

Los casos de EE descritos en la literatura, tanto en niños como en adultos, han respondido de diferente modo a diversas estrategias de tratamiento. Entre ellas se cuentan las de tipo dietético, la endoscópicas y las basadas en el empleo de fármacos.

La literatura describe un número relativamente escaso de pacientes con EE que han recibido algún tipo de tratamiento, y la mayoría de las comunicaciones se refieren a casos aislados o bien a series cortas. No existen estudios comparativos con placebo que muestren la eficacia de los tratamientos ensayados y éstos suelen estar basados en las experiencias previas de los autores. Sin embargo, la mayoría de los autores coincide en la opinión de que, con independencia del tipo de tratamiento aplicado, tras el mismo debería repetirse la endoscopia para comprobar la resolución de la eosinofilia.

En nuestra opinión, la elección del tratamiento debe basarse en dos principios: Por un lado, la eficacia demostrada para la supresión de los síntomas y la resolución de la eosinofilia esofágica, y por el otro, la seguridad del tratamiento en cuanto a su inocuidad y



ausencia de efectos adversos considerables. Además, siempre debe manejarse al paciente de manera individualizada. Seguidamente expondremos los tipos de terapias ensayadas en la EE.

### **10.1 TRATAMIENTOS BASADOS EL CONTROL DE LA EXPOSICIÓN A ALERGENOS.**

En 1995 Kelly fue el primer autor en demostrar el papel etiológico de ciertos componentes de la dieta en el desarrollo de la esofagitis eosinofílica, a conseguir una mejoría clínica e histológica en un grupo de 10 niños con EE que fueron alimentados exclusivamente con una dieta elemental, carente de capacidad alergénica <sup>71</sup>. Markowitz *et al* <sup>105</sup> corroboraron esos datos en una serie más amplia de niños con EE, en los que la restricción dietética logró una rápida mejoría de los síntomas en un periodo medio de 8.5 días y desaparición del infiltrado eosinofílico. Sin embargo, en ese estudio, la gran mayoría de los pacientes precisaron administración del preparado dietético por sonda nasogástrica.

Estos datos indican ya la dificultad para llevar a la práctica estos tratamientos y, tratándose de una enfermedad crónica, la nula consideración que debe prestarse a las dietas elementales en el control a largo plazo de la EE, hechos que se acentúan para el caso de los adultos.

Por otro lado, es ya evidente el papel que los aeroalergenos desarrollan como agentes etiológicos de la enfermedad <sup>61,163</sup>, y que justifican la persistencia de la misma en pacientes sometidos a dietas elementales.

Sin embargo, y por las razones expuestas, en todos los casos de EE debe intentarse la identificación de los agentes etiológicos (alimentos y/o inhalantes ambientales) que desencadenan la reacción alérgica esofágica. Su exclusión de la dieta o el control de la exposición a los mismos abortaría los fenómenos inmunológicos y celulares que conducen a la infiltración de mucosa esofágica y la resolución de la enfermedad, siendo este el tratamiento de máxima seguridad.

### **10.2 TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS.**

El manejo farmacológico de la EE ha sido uno de los puntos más controvertidos desde la descripción de los primeros casos. Varias razones explican este hecho:

- A. En primer lugar, no existen tratamientos farmacológicos específicamente aprobados para la EE.
- B. Además, el curso crónico de la enfermedad desaconseja la administración a largo plazo de fármacos, como los corticoides de acción sistémica y tal vez, el cromoglicato disódico, que, pese a mostrarse eficaces en el control de los síntomas y la resolución del infiltrado inflamatorio, poseen potenciales efectos adversos.
- C. Por otro lado, en la actualidad tampoco disponemos de datos concluyentes sobre el pronóstico a largo plazo de la EE y sus posibles complicaciones que permitan asumir el riesgo que supone el uso prolongado de tratamientos de acción sistémica. Además, ningún estudio ha demostrado que los distintos tratamientos permitan modificar el curso de la enfermedad a largo plazo y la aparición de complicaciones, como las estenosis esofágicas fibrosas.

Seguidamente, repasaremos brevemente los diferentes fármacos empleados en el tratamiento de la EE:

- a) **Corticoides sistémicos** (*Prednisona, metilprednisolona*). En función de la capacidad de estas sustancias para reducir la síntesis y secreción de citocinas con conocidas capacidades para la diferenciación y activación de leucocitos eosinófilos, desde las primeras comunicaciones de casos de la enfermedad disponemos de evidencias sobre la eficacia de los corticoesteroides en el tratamiento de la EE. En 1998 Liacouras demostró que *metilprednisolona* (1.5 mg/kg de peso/día durante 4 semanas con posterior pauta descendente) fue eficaz en una serie de 20 niños con EE para mejorar la clínica y restaurar la histología de la mucosa esofágica, pero la enfermedad recurrió en los 12 meses siguientes en 9 de ellos <sup>224</sup>. Bory empleó dosis de 0.5 mg/kg/día durante un periodo de 6 meses en el caso de un adulto con similar eficacia <sup>225</sup>.
- b) **Corticoides tópicos** (*beclometasona, propionato de fluticasona*). Desde la primera descripción de la eficacia de los corticoides tópicos deglutidos en el tratamiento de las formas infantiles de EE <sup>85</sup>, diversos autores han demostrado, tanto en niños <sup>82,83,107,108</sup> como en adultos <sup>68,77,162,226</sup>, que sus efectos terapéuticos son comparables a los obtenidos con los esteroides sistémicos, minimizando los efectos adversos <sup>227,228</sup>. El mayor inconveniente para la



utilización de estos fármacos es su forma de administración, mediante un sistema de inhalación sin cámara espaciadora, aplicando el fármaco sobre la lengua y deglutiéndolo posteriormente sin inhalarlo. Las dosis empleadas oscilan entre 176 µg/día en niños hasta 4 años y 1000 µg/día en adultos, aplicados durante periodos de tiempo de 6 a 12 semanas. Recientemente ha sido comunicada la eficacia de una solución viscosa de *budesonida* (500 µg/12 horas durante 3 meses) en el tratamiento de 2 niños con esta enfermedad<sup>229</sup>, modo de administración más sencilla y útil en pacientes que no se adaptan a la administración mediante sistemas de aerosol.

c) **Sustancias estabilizadoras de los mastocitos** (*cromoglicato disódico*, *nedocromil*). Actúan mediante la inhibición de la degranulación de mediadores desde los mastocitos y de la función de los linfocitos T, pero también bloquean la secreción de citoquinas pro-inflamatorias eosinofílicas y de leucotrienos. Han sido ensayados con éxito en la gastroenteritis eosinofílica<sup>109,110</sup>, en tanto que son resistentes a la acidez gástrica. Sin embargo, no se dispone de experiencia suficiente con estos fármacos en EE. Sobre el empleo de otros fármacos como *suplatast tosilate*<sup>111</sup> o el inhibidor de la acción de leucotrienos *montelukast*<sup>112,113</sup> sólo disponemos comunicaciones aisladas en casos únicos o series muy cortas, en las que no se demuestra totalmente su capacidad para normalizar la histología esofágica, no contando con suficientes experiencias que permitan considerarlos una verdadera opción terapéutica para la EE.

d) **Nuevos fármacos en desarrollo** (*mepolizumab*): Desde que se definió el papel central que desarrolla IL-5 en eosinofilo-poyesis, la maduración y el reclutamiento de leucocitos eosinófilos, han sido empleados anticuerpos monoclonales humanizados que bloquean la acción de IL-5 para tratar enfermedades hipereosinofílicas. Un anticuerpo monoclonal anti-IL-5 (SCH55700) demostró capacidad para normalizar el recuento sanguíneo y tisular de eosinófilos en un reducido grupo de pacientes con síndrome hipereosinofílico y gastroenteritis eosinofílica<sup>230</sup>, sin bien éstos repuntaban sobre los niveles basales, acompañados de exacerbación de la clínica, tras la suspensión del tratamiento. Mepolizumab ha sido empleado con éxito en un varón de 18 años afecto de EE, logrando reducción significativa de los síntomas

y de la eosinofilia esofágica <sup>231</sup>. Estos resultados preliminares abren nuevas vías de tratamiento para un futuro, aunque se precisa aún disponer de un mejor conocimiento de las bases inmunopatológicas de la enfermedad para conocer el alcance y la utilidad de estas nuevas terapias.

Nuestro trabajo no permite resolver estas incógnitas, pero aporta datos útiles y novedosos sobre la eficacia del tratamiento con el esteroide sintético trifluorado propionato de fluticasona. La biodisponibilidad sistémica para este fármaco por vía inhalatoria (pulmonar) oscila entre el 11,6 y 16,6% de la dosis administrada <sup>232</sup>, pero la biodisponibilidad sistémica de la fluticasona por vía gastrointestinal es despreciable (menor del 1% de la dosis administrada), a la vez que posee un elevado fenómeno de primer paso hepático, cercano al 99%. En la mucosa esofágica resulta inabsorbible y la molécula es inestable en medio ácido, lo que le conferiría una extraordinaria seguridad en el tratamiento tópico de la EE, que ha hecho que muchos autores lo consideremos actualmente la alternativa terapéutica más eficaz disponible <sup>77,82,107,227,228</sup>. Además, la intensa inflamación eosinofílica local junto a la escasa o nula respuesta eosinofílica sistémica que muestran los pacientes con EE refuerza nuestra recomendación.

Estudios previos definen que propionato de fluticasona posee una alta selectividad y afinidad por el receptor de glucocorticoides, lo que le confiere una elevada potencia de acción, al menos el doble de la mostrada por beclometasona y budesonida <sup>233</sup>, y estudios *in vitro* han mostrado su capacidad para inhibir la proliferación de linfocitos T, la síntesis de citocinas, la expresión de moléculas de adhesión, la proliferación de mastocitos, la eosinofilia inducida por IL-5 y para promover la apoptosis de los eosinófilos <sup>233,234</sup>, mediante 3 mecanismos moleculares distintos: 1) Supresión de la síntesis y el efecto de factores de supervivencia del eosinófilo. 2) inducción directa de la apoptosis del eosinófilo y 3) estimulación de su destrucción por células fagocitarias profesionales <sup>235</sup>.

Sin embargo, no disponemos de datos sobre la seguridad del tratamiento prolongado de la EE con propionato de fluticasona, y, aunque su perfil farmacocinético parece óptimo, debería emplearse con precaución en usos crónicos. Nuestra recomendación es instaurar el tratamiento ante pacientes sistomáticos y mantenerlo hasta la remisión de los síntomas y de las lesiones morfológicas, mientras paralelamente se completan los estudios alergológicos que permitan identificar y excluir los alérgenos determinantes del cuadro. En



pacientes con recaída clínica puede considerarse la administración intermitente del fármaco durante periodos cortos de tiempo.

### 10.3 TRATAMIENTOS ENDOSCÓPICOS.

Los pacientes con EE son propensos a la impactación alimentaria y a la aparición de estenosis esofágicas. En este sentido, los tratamientos de desimpactación endoscópica o las dilataciones esofágicas son alternativas terapéuticas a considerar. Por sus diferentes implicaciones las analizaremos de manera separada.

- a) La impactación esofágica es la manifestación que más frecuentemente conduce al diagnóstico de EE, y precisa resolución endoscópica urgente. En la evaluación clínica de la misma debe prestarse atención a existencia de impactaciones pasadas o recurrentes y a los antecedentes personales de alergia. Trece de nuestros pacientes precisaron endoscopia urgente para la resolución de esta complicación, y ésta permitió el diagnóstico de EE. Además de resolver la obstrucción mecánica, la endoscopia permite valorar la presencia de estenosis o anillos esofágicos y el aspecto de la mucosa del órgano. Ante la presencia de alteraciones mucosas sospechosas de EE, debe considerarse la toma de biopsias con fines diagnósticos, bien durante el mismo acto endoscópico, o de manera diferida.
- b) Las dilataciones endoscópicas constituyen el tratamiento habitual de las estenosis esofágicas de carácter rígido o fibroso resultantes de la cicatrización de procesos inflamatorios de curso prolongado que afectan a la mucosa del tracto digestivo, capaces de ampliar la luz del órgano al desgarrar las estructuras fibrosas de su pared. En este sentido, diversos autores han recurrido a la dilatación hidroneumática de las estenosis mucosas del esófago condicionadas por la infiltración eosinofílica del mismo <sup>73,108</sup>. La dilatación endoscópica conduce a un indudable alivio sintomático <sup>236</sup> de manera inmediata, y por este motivo ha sido propuesto como tratamiento de elección para la EE por algunos autores <sup>115,127</sup>. En dos de nuestros pacientes se realizó dilatación esofágica mediante balón hidrostático, produciendo un alivio temporal de los síntomas, con posterior recaída que requirió tratamiento con propionato de fluticasona. La dilatación endoscópica del esófago no actúa sobre el sustrato inflamatorio subyacente a la EE, y resultan molestas y peligrosas para el paciente, por lo que en nuestra opinión, no constituyen un

tratamiento a considerar en la EE. Como complicaciones de las dilataciones en la EE se han comunicado dolor torácico que requirió hospitalización y analgesia por vía venosa y hemorragia por desgarros inusuales y hematomas <sup>237</sup>. Al tratarse de estenosis funcionales debidas a la contractura de la musculatura lisa del esófago, las dilataciones esofágicas en la EE ciertamente suponen un riesgo inaceptable de desgarro y perforación del órgano, al no existir una pared fibrosa del mismo, que contenga la distensión desgarradora causada por la presión del dilatador. Así, la distensión de la luz esofágica traccionará directamente sobre la pared del mismo con dislaceración de sus diferentes capas. De ahí la inusual severidad de los desgarros post-tratamiento endoscópico en la EE.

Cuando en el estudio de un paciente con disfagia y estenosis esofágicas se sospeche EE, debe considerarse la posibilidad de un tratamiento esteroideo tópico, y abstenerse de realizar dilataciones endoscópicas hasta que la infiltración eosinofílica haya sido descartada.



## RESUMEN

Hemos estudiado la esofagitis eosinofílica (EE) en una serie amplia de pacientes, de forma coordinada con los Servicios de Alergología, Anatomía Patológica, Unidad de Investigación y Aparato Digestivo (endoscopia y pruebas funcionales digestivas), lo que nos ha permitido conocer las características clínicas y fisiopatológicas de esta enfermedad. Hasta el momento actual no habían sido estudiados conjuntamente los aspectos diagnósticos y fisiopatológicos de esta enfermedad en un mismo grupo de pacientes adultos, y la información de que disponíamos estaba referida únicamente a series reducidas o a casos aislados, en los que se analizaban sólo algunos aspectos de esta enfermedad.

La EE es una enfermedad de reciente conocimiento condicionada por una densa infiltración de la mucosa esofágica por leucocitos eosinófilos, que se manifiesta fundamentalmente por disfagia recurrente y episodios de impactación alimentaria en el esófago y afecta mayoritariamente a individuos del sexo masculino. La EE fue inicialmente descrita en pacientes pediátricos pero cada vez es mayor el número de adultos afectados por esta enfermedad en los países industrializados.

Se conocen pocos datos de la fisiopatología de la enfermedad, pero la mayoría de los autores coinciden en que se trata de un proceso inmunoalérgico determinado por hipersensibilidad frente a ciertos componentes de la dieta o a aeroalergenos, que determina una densa infiltración del epitelio esofágico por leucocitos eosinófilos. Sin embargo, hasta la fecha no ha sido establecido un modelo fisiopatológico universalmente aceptado, y muchos de los mecanismos íntimos de la enfermedad continúan sin esclarecerse.

Nuestro trabajo analiza la serie prospectiva más amplia de esta enfermedad en pacientes adultos descrita hasta el momento actual, a través de las características clínicas, morfológicas, funcionales y la historia natural de la enfermedad, y valora la respuesta al tratamiento esteroideo tópico en función de parámetros objetivos. De este modo, pretendemos contribuir a esclarecer los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la EE.

En el periodo comprendido entre mayo de 2002 y diciembre de 2005 hemos estudiamos de forma exhaustiva en el Hospital La Paz de Madrid los pacientes adultos con clínica de disfagia o impactación alimentaria en los que, tras la endoscopia, se estableció el diagnóstico de EE mediante la demostración de un infiltrado del epitelio esofágico por más



de 24 eosinófilos por campo de gran aumento, una vez excluidas otras causas de eosinofilia esofágica.

Los resultados de nuestro estudio determinan que la EE es una entidad claramente emergente cuya incidencia anual media para el Área sanitaria V de Madrid hemos estimado en 1.8 casos/100.000 habitantes y su prevalencia acumulada en el periodo 2002-2005 en 7.2 casos/100.000. En nuestro estudio hemos analizado 30 pacientes adultos (27 varones y 3 mujeres) con edad media en el momento del diagnóstico de 36.2 años (rango: 16.5-66.5). La mayoría de los pacientes estudiados presentaban clínica de disfagia crónica e intermitente de larga evolución (63.3%) o episodios de impactación alimentaria (83.3%) que habían precisado endoscopia urgente en más de la mitad de los casos. El tiempo medio de evolución de los síntomas fue de 94.7 meses (rango: 1-385). Veintisiete pacientes fueron estudiados por Alergología: 24 de ellos mostraban sensibilización a alimentos y/o inhalantes en las pruebas cutáneas de *prick*. Doce mostraban eosinofilia sanguínea, 15 valores elevados de Ig E sérica, 15 aumento de ECP sérica y los niveles de triptasa sérica eran normales en todos los casos.

Los hallazgos endoscópicos en nuestros pacientes han sido variados: en más de la mitad de los casos (56.7%) se describieron múltiples anillos de contracción simultánea a lo largo del esófago y el 20% mostraban estenosis concéntricas sobre los 2/3 inferiores del órgano. El aspecto endoscópico de la mucosa mostró diversos hallazgos que, atendiendo a su correlación con la histología, hemos clasificado en cuatro patrones bien diferenciados: a) mucosa irregular con sobre-elevaciones papulares (20%), b) surcos lineales longitudinales en el esófago, remarcados por edema mucoso (33.3%), c) mucosa ondulada como expresión del efecto de la *muscularis mucosae* sobre la capa mucosa con edema (3.3%), d) lesiones blanquecinas como patrón exudativo que traduce acúmulos epiteliales o microabcesos constituidos por eosinófilos (16.6%). La superposición de todas estas lesiones endoscópicas confieren un aspecto de la mucosa frágil y quebradizo.

Se objetivaron trastornos manométricos restringidos a los 2/3 inferiores del esófago (constituidos por músculo liso). El estudio del cuerpo esofágico mostró 2 tipos de patrones relacionados con el tiempo de evolución de la enfermedad: En aquellos con curso clínico más recortado (9 casos) predominaban dinámicas hipercinéticas caracterizadas por ondas peristálticas de gran amplitud, mientras que en los de mayor tiempo de evolución de sus

síntomas (17 pacientes) destacaban esófagos hipo o aperistálticos, con escasa capacidad motora. El comportamiento dinámico del esfínter esofágico inferior mostró alteraciones en el 73,3% de los casos.

El estudio histológico definió cambios hiperproliferativos epiteliales y densa infiltración de leucocitos eosinófilos, que con frecuencia formaban microabcesos en la superficie mucosa que despegaban el epitelio suprayacente. El análisis inmunohistoquímico y estereológico de las muestras mostró que el epitelio esofágico posee todos los elementos celulares necesarios para la generación de una respuesta inmunoalérgica local, y que éstos se incrementan notablemente en la EE. Pudimos cuantificar células de Langerhans (que no incrementaban su densidad en la EE) y un marcado incremento de linfocitos T, especialmente CD8<sup>+</sup>, situados en la porción media y profunda del epitelio, al igual que los abundantes mastocitos encontrados. Los eosinófilos se distribuían preferentemente en los estratos más superficiales y mostraban marcadores de activación y degranulación. Además, detectamos células plasmáticas con citoplasma intensamente positivo frente a Ig E, responsables de producción local de este anticuerpo.

Tras el tratamiento instaurado, todos los pacientes refirieron mejoría clínica significativa, e incremento de su calidad de vida, paralelamente a la normalización del aspecto endoscópico esofágico, y la remisión del infiltrado eosinofílico y de las lesiones histológicas, que se logró en 27 de nuestros pacientes. En ellos, la manometría post-tratamiento detectó un aumento medio de la presión basal del cardias y una normalización de la capacidad motora peristáltica del cuerpo esofágico. El análisis inmunohistoquímico y estereológico determinó la remisión del infiltrado inflamatorio epitelial hasta densidades celulares cercanas a la normalidad, aunque la densidad de mastocitos se mantuvo discretamente elevada.

La cuantificación de la expresión génica de IL-5 y eotaxina-1 mostró que ambos genes se encontraban sobreexpresados antes del tratamiento de un modo variable en la mayor parte de los pacientes analizados, y que la contribución de los mismos a la fisiopatología de la EE pudiera presentar diferencias interindividuales.

La EE puede considerarse entre las enfermedades alérgicas del tubo digestivo, y supone una inflamación de la mucosa esofágica a partir de la exposición local a distintos



alergenos frente a los que existe sensibilización previa, adquirida por vía digestiva, pero también inhalatoria o incluso epicutánea. El esófago posee los elementos celulares necesarios para la captación, procesamiento y presentación de antígenos a los linfocitos T residentes en su epitelio, quienes iniciarían una respuesta de tipo  $T_H2$  mediada en gran medida por IL-5, con un posible componente  $T_H1$  que debe ser confirmado con futuros estudios. En su fisiopatología participaría igualmente Ig E de producción local, y este hecho determina que podamos considerar que en la base de la EE exista un trastorno inmunológico mixto, humoral y mediado por células. Por esta razón, los estudios alergológicos dirigidos a la identificación de los alérgenos causantes del cuadro deben considerar, además de aquellas pruebas destinadas a determinar sensibilizaciones mediadas por Ig E, estudios de hipersensibilidad retardada o mediada por células. De este modo, para un buen control de la EE será necesario controlar óptimamente todas las manifestaciones atópicas que presente el paciente.

El infiltrado inflamatorio en la EE se caracteriza, además de por intenso reclutamiento de eosinófilos, también por la presencia de numerosos mastocitos, que son también atraídos y estimulados por la acción de los linfocitos T. La liberación de histamina y otros mediadores por los mastocitos se produciría por acción directa de Ig E, y posiblemente también por los propios antígenos y por una amplia variedad de agentes no inmunológicos presentes en el medio.

La activación de los eosinófilos y la degranulación de sus proteínas ocasiona daño sobre el epitelio esofágico, a fin de destruir los antígenos que han iniciado la respuesta inflamatoria. Los cambios proliferativos del epitelio representan la respuesta regenerativa de reparación tisular. Las sustancias contenidas en los gránulos de los eosinófilos y de los mastocitos, actúan sobre los componentes neuromusculares de la pared del órgano a través de distintos mecanismos, originando un grave desorden de la capacidad motora del esófago, que en una primera fase mostrará un comportamiento hipercinético o espástico (manifestado clínicamente por dolor y síntomas de ERGE) y luego evolucionará hacia un trastorno hipo o aperistáltico, por agotamiento de la capacidad funcional del músculo (con frecuentes episodios de impactación alimentaria).

El tratamiento esteroideo tópico restaura la histología esofágica al revertir los fenómenos inflamatorios, a través de sus efectos antieosinofílicos y proapoptóticos, lo que

se traduce en una recuperación de la motilidad normal del órgano. Se observa una mejoría significativa en la capacidad de deglución de los pacientes que va paralela a un aumento en su calidad de vida.

Propionato de fluticasona posee un perfil farmacocinético y de seguridad que le convierte en un fármaco apropiado para inducir la remisión de las lesiones endoscópicas, histológicas y la sintomatología en los pacientes afectos de EE, pero parece prudente recomendar su empleo con precaución en usos crónicos. Nuestra recomendación sería instaurar el tratamiento ante pacientes sistomáticos y mantenerlo hasta la remisión de los síntomas y de las lesiones morfológicas, mientras paralelamente se completan los estudios alergológicos que permitan identificar y excluir los alérgenos determinantes del cuadro. Consideramos que la única indicación terapéutica del tratamiento endoscópico está en la desimpactación alimentaria del esófago.





Mediante este estudio respondemos a las cuestiones que se habían planteado entre los Objetivos del trabajo.

#### **A) Características clínicas, endoscópicas y funcionales de la EE. Epidemiología.**

##### **Sensibilización alérgica:**

**A.1.** La EE es una enfermedad emergente de diagnóstico cada vez más frecuente. Su incidencia en nuestra área sanitaria es de 1.8 casos/100.000 habitantes a año, y su prevalencia acumulada en los últimos años de 7.2 casos/100.000 habitantes.

**A.2.** Afecta generalmente a individuos del sexo masculino, a lo largo de todas las edades de la vida, y presenta un importante retraso diagnóstico, de 95 meses de media.

**A.3.** Su presentación clínica fundamental consiste en disfagia de curso crónico, con frecuentes episodios de impactación alimentaria, por lo que debe ser considerada en el diagnóstico diferencial de la disfagia, especialmente en individuos jóvenes o con endoscopia no concluyente.

**A.4.** La sensibilización a múltiples inhalantes y alimentos es habitual en los pacientes adultos con EE.

##### **B) Mecanismos fisiopatológicos en la EE:**

**B.1.** La EE es un trastorno de etiología inmunoalérgica, caracterizado por una pérdida de tolerancia inmunológica y sensibilización frente a antígenos por exposición a través de la vía digestiva, inhalación y tal vez por vía epicutánea. De este modo, la EE es una enfermedad de carácter sistémico con manifestaciones locales esofágicas, cuyo tratamiento debe implicar el control óptimo de todas las manifestaciones atópicas del paciente.

**B.2.** Consiste en un desorden mixto de la inmunidad celular, pero también de la humoral, que está mediado por linfocitos T ( $CD4^+$  y especialmente,  $CD8^+$ ) y por Ig E de producción intraepitelial.



**B.3.** IL-5 puede desempeñar un papel central en una elevada proporción de casos, por lo que la enfermedad representa una respuesta selectiva  $T_H2$  con una posible participación  $T_H1$ .

**B.4.** Los leucocitos eosinófilos y los mastocitos son las células efectoras finales de la enfermedad. Sus acciones sobre el epitelio y los componentes neuromusculares de la pared esofágica son el origen de los trastornos morfológicos y funcionales que caracterizan la EE.

**C) Hallazgos endoscópicos y lesiones histológicas en la EE. Clasificación de la esofagitis eosinofílica.**

**C.1.** La acción tóxica y destructiva de los eosinófilos sobre el epitelio esofágico genera una respuesta reparadora, con cambios histológicos bien definidos de carácter inespecífico. La intensidad de las lesiones histológicas muestra correlación con el aspecto endoscópico de la mucosa del órgano. Proponemos una clasificación endoscópica de la EE en función del calibre y del aspecto de la mucosa esofágicos.

**D) Alteraciones motoras en la EE. Clasificación de las alteraciones funcionales.**

**D.1.** La EE produce una alteración motora en la porción esofágica constituida por músculo liso. En el cuerpo se observan 2 patrones distintos relacionados con el tiempo de evolución de la enfermedad: Inicialmente predominan trastornos caracterizados por ondas peristálticas de gran amplitud, que al evolucionar condicionarían esófagos hipo o aperistálticos, con escasa capacidad motora. El cardias muestra alteraciones en una elevada proporción de casos.

**E) Tratamiento esteroideo tópico de la EE: Eficacia en términos objetivos.**

**E.2.** El tratamiento tópico con propionato de fluticasona mejora los síntomas del paciente, las lesiones endoscópicas e histológicas, normaliza la función motora esofágica y mejora la calidad de vida de los pacientes, con buena tolerancia y sin complicaciones. Por su eficacia y seguridad, puede considerarse la mejor alternativa terapéutica actual para la EE sintomática.

1. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
2. Lerner, J.W. (1975) *Endocrinology*. Boston: Little, Brown.
3. Chatterjee, D.J. and Chatterjee, S. (1977) *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
4. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
5. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
6. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
7. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
8. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
9. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
10. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
11. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
12. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
13. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
14. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.
15. Miller, G.W. and Amara, R.M. (1977) The effects of stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 1, 1-14.

## BIBLIOGRAFÍA



1. Meyer GW, Austin RM, Brady CE, and et al. Muscle anatomy of the human esophagus. *J Clin Gastroenterol* 8, 131. 1986.
2. Castell DO (ed). *The esophagus*. Boston, Little, Brown & Company . 1992.
3. Cunningham ET and Swachenko PE. Central neural control of esophageal motility: a review. *Dysphagia* 5, 35. 1990.
4. Mittal RK and Ralaban DH. The eosophagogastric junction. *N Engl J Med* 336, 924. 1997.
5. Pope CE 2nd. Normal anatomy and developmental anormalities. En Sleisenger MH, Fordtran IS (eds). *Gastrointestinal Disease*. 5th ed. Philadelphia. WB Saunders . 311-318. 1993.
6. Homby PJ and Abrahams TP. Central control of lower esophageal sphincter relaxation. *Am Med J* 108 (Suppl 4<sup>a</sup>), 90S. 2000.
7. Roman C and Tieffenbach L. Electrical activity of esophageal smooth muscle in vagotomized and anesthetized cats. *J Physiol (Paris)* 63, 733. 1971.
8. Kim J, Woods A, Becker-Dunn E, and et al. Distinct functional phenotypes of cloned Ia-restricted helper T cells. *J Exp Med* 162, 188. 1985.
9. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, and et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lynfokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 136, 2348. 1986.
10. Barner M, Mohrs M, Brombacher F, and et al. Differences between IL-4R alpha-deficient mice reveal a role for IL-13 in the reguklation of Th2 responses. *Curr Biol* 8, 669. 1998.
11. Coffman RL, Seymour BW, Hudak S, and et al. Antibody to interlukine-5 inhibits helminth-induced eosinophilia. *Science* 245, 308. 1989.
12. Cohn L and Ray A. *Biology of Lynphocytes*. In: Middletown's Allergy. principles and practise Philadelphia. Pennsylvania. Mosby Ed. 279-290. 2003.
13. Coyle AJ, Erard F, Bertrand C, and et al. Virus-specific Cd8 cells can switch to interleukin 5 production and induce airway eosinophilia. *J Exp Med* 181, 1229. 1995.
14. Croft M, Carter L, Swain SL, and et al. Generation of polarized antigen-specific CD8 effector populations: reciprocal action of interleukin (IL)-4 and IL-12 in promoting type 2 versus type 1 cytokine profiles. *J Exp Med* 180, 1715. 1994.
15. Seder RA, Boulay JL, Finkelman F, and et al. CD8+ T cells can be primed in vitro to produce IL-4. *J Immunol* 148, 1652. 1992.

16. MacDonal TT and Pender SL. Lamina propria T cells. *Chem Immunol* 71, 103, 1998.
17. MacDonal TT, Bajaj-Elliott M, and Pender SL. T cells orchestrate intestinal mucosal shape and integrity. *Immunol Today* 20, 505, 1999.
18. Rothenberg ME. Eosinophilic gastrointestinal disorders. *J Allergy Clin Immunol* 113(1), 11-28, 2004.
19. De Keyser F, Elewaut D, De Wever N, and et al. The gut associated addressins: Lymphocyte homing in the gut. *Baillieres Clin Rheumatol* 10, 25, 1996.
20. Moneret-Vautrin AD. Gastrointestinal allergy in adults. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17, 1293-1297, 2005.
21. Murch SH. Clinical manifestations of food allergy: the old and the new. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17(2), 1287-1291, 2005.
22. Heine RG. Pathophysiology, diagnosis and treatment of food protein-induced gastrointestinal diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 4(3), 221-229, 2004.
23. De Angelis P, Markowitz JE, Torroni F, Caldaro T, Pane A, Morino G, Sforza Wietrzykowska R, Federici di Abriola G, Ponticelli A, and Dall-oglio L. Paediatric eosinophilic oesophagitis: Towards early diagnosis and best treatment. *Dig Liver Dis Sep* 28, 2005.
24. Behm CA and Ovington KS. The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. *Parasitol Today* 16, 202-209, 2000.
25. Butterworth AE. The eosinophil and its role in immunity to helminth infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 77, 127-168, 1977.
26. Butterworth AE. Cell-mediated damage to helminths. *Adv Parasitol* 23, 143-235, 1984.
27. Butterworth AE, Wassom DL, Gleich GJ, Loegering DA, and Davis JR. Damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni* induced directly by eosinophil major basic protein. *J Immunol* 122, 221-229, 1979.
28. Gleich GJ and Adolphson CR. The eosinophilic leukocyte: structure and function. *Adv Immunol* 39, 177-253, 1986.
29. Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med* 324, 1110-1118, 1991.
30. Rothenberg ME. Eosinophilia. *N Engl J Med* 338, 1592-1600, 1998.
31. Rothenberg ME, Mishra A, Brandt EB, and Hogan SP. Gastrointestinal eosinophils. *Immunol Rev* 179, 139-155, 2001.



32. Lucey DR, Nicholson WA, and Weller PF. Mature human eosinophils have the capacity to express HLA-DR. *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 1348-1351. 1989.
33. Ohkawara Y and et al. CD40 expression by human peripheral blood eosinophils. *J Clin Invest* 97, 1761-1766. 1996.
34. Woerly G, Roger N, Loiseau S, Dombrowicz D, Capron A, and Capron M. Expression of CD28 and CD 86 by human eosinophils and role in the secretion of type 1 cytokines (interleukin 2 and interferon gamma) by immunoglobulin A complexes. *J Exp Med* 190, 487-496. 1990.
35. Kita H. The eosinophil: a cytokine producing cell? *J Allergy Clin Immunol* 97, 889-892. 1996.
36. Kita H, Adolphson CR, and Gleich GJ. Biology of eosinophils. In: *Middletown's Allergy, principles and practise* Philadelphia, Pennsylvania. Mosby 6Th ed. 305-332. 2003.
37. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 105, 651-663. 2000.
38. Seminario MC and Gleich GJ. The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Curr Opin Immunol* 6(6), 860-864. 1994.
39. Furuta GT, Ackerman SJ, and Wershil BK. The role of the eosinophil in gastrointestinal diseases. *Curr Opin Gastroenterol* 11, 541-547. 1995.
40. Fox VL, Nurko S, and Furuta GT. Eosinophilic esophagitis: It's not just kid's stuff. *Gastrointest Endosc* 56(2), 260-270. 2002.
41. Kato M, Kephart GM, Talley NJ, and et al. Eosinophil infiltration and degranulation in normal human tissue. *Anat Rec* 252, 418-425. 1998.
42. Rothenberg ME, Mishra A, Collins MH, and Putman PE. Pathogenesis and clinical features of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 108, 891-894. 2001.
43. Torpier G and et al. Eosinophilic gastroenteritis: ultrastructural evidence for a selective release of eosinophil major basic protein. *Clin Exp Immunol* 74, 404-408. 1988.
44. Rothenberg ME, Mishra A, Brandt EB, and Hogan SP. Gastrointestinal eosinophils in health and disease. *Adv Immunol* 78, 291-328. 2001.
45. Winter HS, Madara JL, Stafford RJ, Grand RJ, Quinlan JE, and Goldman H. Intraepithelial eosinophils: a new diagnostic criterion for reflux esophagitis. *Gastroenterology* 83, 818-823. 1982.
46. Brown LF, Goldman H, and Antonioli DA. Intraepithelial eosinophils in endoscopic biopsies of adults with reflux esophagitis. *Am J Surg Pathol* 8, 899-905. 1984.
47. Kaijser R. Zur Kenntnis der allergischen Affektionen des Verdauungskanal von Standpunkt des Chirurgen aus. *Arch Klin Chir* 188, 36-64. 1937.

48. Waldmann TA, Wochner RD, Laster L, and Gordon Jr RS. Allergic gastroenteropathy. A cause of excessive gastrointestinal protein loss. *N Engl J Med* 276, 762-769. 1967.
49. Klein NC, Hargrove RL, Sleisenger MH, and Jeffries GH. Eosinophilic gastroenteritis. *Medicine (Baltimore)* 49, 299-319. 1970.
50. Moon A and Kleinman RE. Allergic gastroenteropathy in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 74, 5-12. 1995.
51. Markowitz JE and Liacouras CA. Eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology Clin North Am* 32, 949-966. 2003.
52. Attwood SE, Smyrk TC, Demeester TR, and Jones JB. Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. *Dig Dis Sci* 38(1), 109-116. 1993.
53. Dobbins JW. Eosinophilic gastroenteritis with esophageal involvement. *Gastroenterology* 72, 1312. 1977.
54. Ureles AL, Alschibaja T, and Lodico D. Idiopathic eosinophilic infiltration of the the gastrointestinal tract, diffuse and circumscribed. *Am J Med* 30, 899. 1961.
55. Cello JP. Eosinophilic gastroenteritis a complex disease entity. *Am J Med* 67, 1097. 1979.
56. Picus D and Frank P. Eosinophilic esophagitis. *Am J Roentgenol* 136, 1001. 1981.
57. Spergel J, Rothenberg ME, and Fogg M. Eliminating eosinophilic esophagitis. *Clin Immunol* 115, 131-132. 2005.
58. Lucendo AJ, Carrión G, Navarro M, Pascual JM, Gonzalez P, Castillo P, and Erdozain JC. Eosinophilic esophagitis in adults: an emerging disease. *Dig Dis Sci* 49, 1884-1888. 2004.
59. Desai TK, Stecevic V, Chang C-H, Goldstein NS, Badizadegan K, and Furuta GT. Association of eosinophilic inflammation with esophageal food impaction in adults. *Gastrointest Endosc* 61(7), 795-801. 2005.
60. Arora AS and Yamazaki K. Eosinophilic esophagitis: asthma of the esophagus? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2, 523-530. 2004.
61. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, and Rothenberg ME. An etiological role for aeroallergens and eosinophils in experimental esophagitis. *J Clin Invest* 107, 83-90. 2001.
62. Sampson HA. Food allergy. *JAMA* 278, 1888-1894. 1997.
63. Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, Royalty MP, Pope SM, Zimmermann N, Foster PS, and Rothenberg ME. A pathological function for eotaxin and eosinophils in eosinophilic gastrointestinal inflammation. *Nat Immunol* 2(4), 353-360. 2001.



64. Dvorak AM, Onderdonk AB, McLeod RS, and et al. Ultrastructural identification of exocytosis of granules from human gut eosinophils in vivo. *Int Arch Allergy Immunol* 102, 33-45. 1993.
65. Martin ST, Collins CG, Fitzgibbon J, Lee G, Quigley EM, and O'Sullivan GO. Gastric motor dysfunction: is eosinophilic mural gastritis a causative factor? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17, 983-986. 2005.
66. Lim JR, Gupta SK, Croffie JM, Pfefferkorn MD, Molleston JP, Corkins MR, Davis MM, Faught PP, Steiner SJ, and Fitzgerald JF. White specks in the esophageal mucosa: an endoscopic manifestation of non-reflux eosinophilic esophagitis in children. *Gastrointest Endosc* 59(7), 835-838. 2004.
67. Zimmermann SL, Levine MS, Rubesin SE, Mitre MC, Furth EE, Laufer I, and Katzka DA. Idiopathic eosinophilic esophagitis in adults: the ringed esophagus. *Radiology* 236(1), 159-165. 2005.
68. Remedios M, Campbell C, Jones DM, and Kerlin P. Eosinophilic esophagitis in adults: clinical, endoscopic, histologic findings, and response to treatment with fluticasone propionate. *Gastrointest Endosc* 63(1), 3-12. 2006.
69. Simon D, Marti H, Heer P, Simon HU, Braathen LR, and Straumann A. Eosinophilic esophagitis is frequently associated with IgE-mediated allergic airway diseases. *J Allergy Clin Immunol* 115(5), 1090-1092. 2005.
70. Sgouros SN, Bergele C, and Mantides A. Eosinophilic esophagitis in adults: a systematic review. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 18, 211-217. 2006.
71. Kelly KJ, Lazenby AJ, Rowe PC, Yardley JH, Perman JA, and Sampson HA. Eosinophilic esophagitis attributed to gastroesophageal reflux: improvement with an amino acid-based formula. *Gastroenterology* 109, 1503-1512. 1995.
72. Orenstein SR, Shalaby TM, Di Lorenzo C, Putman PE, Sigurdsson L, and Kocoshis SA. The spectrum of pediatric eosinophilic esophagitis beyond infancy: a clinical series of 30 children. *Am J Gastroenterol* 95(6), 1422-1430. 2000.
73. Straumann A, Rossi L, Simon HU, and Heer P. Fragility of the esophageal mucosa: a pathognomonic endoscopic sign of primary eosinophilic esophagitis? *Gastrointest Endosc* 57, 407. 2003.
74. Tummala V, Barwick KW, Sontag SJ, Vlahcevic RZ, and McCallum RW. The significance of intraepithelial eosinophils in the histologic diagnosis of gastroesophageal reflux. *Am J Clin Pathol* 87, 43-48. 1987.
75. Gleich GJ and Kita H. Bronchial asthma: lessons from murine models. *Proc Natl Acad Sci USA* 94, 2101-2102. 1997.
76. Straumann A, Spichtin HP, Bernoulli R, Loosli J, and Vogtlin J. Idiopathic eosinophilic esophagitis: a frequently overlooked disease with typical clinical aspects and discrete endoscopic findings. *Schweiz Med Wochenschr* 124(33), 1419-1429. 1994.

77. Lucendo Villarin AJ, Carrión Alonso G, Navarro Sánchez M, Martín Chávarri S, Gómez Senent S, Castillo Grau P, Pascual Turrión JM, and González Sanz-Agero P. Eosinophilic eosinophilic in adults, an emerging cause of dysphagia. Description of 9 cases. *Rev Esp Enf Dig* 97(4), 229-239. 2005.
78. Mueller S, Aigner T, Neureiter D, and Stolte M. Eosinophil infiltration and degranulation in esophageal mucosa from adult patients with eosinophilic esophagitis (EE). A retrospective comparative pathologic biopsy study. *J Clin Pathol* (in press). 2006.
79. Gupta SK, Fitzgerald JF, Roudratynk T, and Hogenesch H. Cytokine expression in normal and inflamed esophageal mucosa: a study into the pathogenesis of allergic eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 42(1), 22-26. 2006.
80. Blanchard C, Wang N, Stringer KF, Mishra A, Fulkerson PC, Abonia JP, Jameson SC, Kirby C, Konikoff MR, Collins MH, Cohen MB, Akers R, Hogan SP, Assa'ad A, Putman PE, Aronow BJ, and Rothenberg ME. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Clin Invest* 116(2), 536-547. 2006.
81. Wang HH, Mangano MM, and Antonioli A. Evaluation of T-Lymphocytes in esophageal mucosal biopsies. *Mod Pathol* 7(1), 55-58. 1994.
82. Teitelbaum J, Fox V, Twarog F, Nurko S, Antonioli D, Badizadegan K, and Furuta GT. Eosinophilic Esophagitis in Children: immunopathological analysis and response to fluticasone propionate. *Gastroenterology* 122, 1226-1225. 2002.
83. Noel RJ, Putman PE, Collins MH, Assa'ad AH, Guajardo JR, Jameson SC, and Rothenberg ME. Clinical and immunopathologic effects of swallowed fluticasone for eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2(7), 568-575. 2004.
84. Kumar R, Sentongo T, Nelson SP, Melin-Aldana H, and Li BUK. Eosinophilic esophagitis in children. a review. *Clin Applied Immunol Rev* 4, 173-188. 2003.
85. Faubion WA, Perrault J, Burgart LJ, Zein NN, Clawson M, and Furuta GT. Treatment of eosinophilic esophagitis with inhaled corticosteroids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 27, 90-93. 1998.
86. Justinich CJ, Kalafus D, Esposito P, and et al. Mucosal mast cells distinguish allergic from gastroesophageal reflux-induced esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 23, 342A. 1996.
87. Church MK, Shute JK, and Sampson AP. Mast cell-derived mediators. In: *Middletown's Allergy, principles and practise* Philadelphia, Pennsylvania. Mosby Ed, 189-212. 2003.
88. Cheung KM, Oliver MR, Vameron DJS, Catto-Smith AG, and Chow CW. Esophageal eosinophilia in children with dysphagia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*.
89. Mann NS and Leung JW. Pathogenesis of esophageal ring in eosinophilic esophagitis. *Med Hypotheses* 64(3), 520-523. 2005.



90. Metcalfe DD, Baram D, and Mekory YA. Mast cells. *Physiol Rev* 77(4). 1033-1079. 1997.
91. Vanderhoff JA and Young RJ. Allergic disorders of the gastrointestinal tract. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 4, 553-556. 2001.
92. Weller PF and et al. Role of the eosinophil in allergic reactions. *Eur Respir J* 22. 109s-115s. 1996.
93. Cieslewicz G, Tomkinson A, Adler A, Duez C, Schwarze J, Takeda K, Larson KA, Lee JJ, Irvin CG, and Gelfand EW. The late, but not early, asthmatic response is dependent on IL-5 and correlates with eosinophil infiltration. *J Clin Invest* 104(3). 301-308. 1999.
94. Gutierrez Ramos JC, Lloyd C, and Gonzalo JA. Eotaxin: from an eosinophilic chemokine to a major regulator of allergic reactions. *Immunol Today* 20. 500-504. 1999.
95. Mishra A, Hogan SP, Lee JJ, Foster PS, and Rothenberg M. Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract. *J Clin Invest* 103(12). 1719-1727. 1999.
96. Rothenberg M, Luster AD, and Leder P. Murine eotaxin: an eosinophilchemoattractant inducible in endothelial cells and in interleukin 4-induced tumor suppression. *Proc Natt Acad Sci USA* 92(19). 8960-8964. 1995.
97. Zimmermann N, Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, Bodette TR, Pope SM, and et al. Murine eotaxin-2: a constitutive eosinophil chemokine induced by allergen challenge and IL-4 overexpression. *J Immunol* 165(10). 5839-5846. 2000.
98. García-Zepeda EA and et al. Human eotaxin is a specific chemoattractant for eosinophils cells and provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia. *Nature Med* 2. 449-456. 1996.
99. Lamkhieoued B, Renzi PM, Abi-Younes S, and et al. Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. *J Immunol* 159. 4593-4601. 1997.
100. Ying S, Meng Q, Zeibecoglou K, and et al. Eosinophil chemotactic chemokines (eotaxin, eotaxin-2, RANTES, monocyte chemoattractant protein-3 (MCP-3) and MCP-4), and C-C chemokine receptor 3 expression in bronchial biopsies from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *J Immunol* 163. 6321-6329. 1999.
101. Fujirawa H, Morita A, Kobayashi H, Hamano K, Fujirawa Y, Hirai K, Yano M, Naka T, and Saeki Y. Infiltrating eosinophils and eotaxin: their association with idiopathic eosinophilic esophagitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 89(4). 429-432. 2005.
102. Miyahara N, Swanson B, Takeda K, Taube C, Miyahara S, Kodama T, Dakhama A, Ott VL, and Gelfand EW. Effector CD8+ T cells mediate inflammation and air way hyper-responsiveness. *Nature Med* 10(8). 865-869. 2004.

103. Straumann A, Bauer M, Fischer B, Blaser K, and Simon HU. Idiopathic eosinophilic esophagitis is associated with a T(H)2-type allergic inflammatory response. *J Allergy Clin Immunol* 108(6), 954-961. 2001.
104. Bishop WP, Haber BA, Lichtman SN, and Shneider BL. Learning more about eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 35, 711-712. 2002.
105. Markowitz JE, Spergel JM, Ruchelli E, and et al. Elemental diet is an effective treatment for eosinophilic esophagitis in children and adolescents. *Am J Gastroenterol* 98(4), 777-782. 2003.
106. Borda F, Jiménez FJ, Martínez Peñuela JM, Echarri A, Martín Granizo I, and Aznarez R. Esofagitis eosinofílica: ¿una entidad infradiagnosticada? *Rev Esp Enf Dig* 88(10), 701-704. 1996.
107. Arora AS, Perrault J, and Smyrk TC. Topical corticosteroid treatment of dysphagia due to eosinophilic esophagitis. *Mayo Clin Proc* 78, 830-835. 2003.
108. Langdon DE. Fluticasone in eosinophilic corrugated ringed esophagus. *Am J Gastroenterol* 96, 926-927. 2001.
109. Moots RJ, Prouse P, and Gumpel JM. Near fatal eosinophilic gastroenteritis responded to oral sodium cromoglycate. *Gut* 29, 1282-1285. 1988.
110. Businco L and Cantani A. Food allergy in children: diagnosis and treatment with sodium cromoglycate. *Allergol Immunopathol (Madr)* 18, 339-348. 1990.
111. Shirai T, Hashimoto D, Suzuki K, Osawa S, Aonahata M, Chida K, and Nakamura H. Successful treatment of eosinophilic esophagitis gastroenteritis with suplatast tosilate. *J Allergy Clin Immunol* 107(5), 924. 2001.
112. Neustrom MR and Friesen C. Treatment of eosinophilic gastroenteritis with montelukast (letter). *J Allergy Clin Immunol* 104, 506. 1999.
113. Attwood SE, Lewis CJ, Bronder CS, Morris CD, Armstrong GR, and Whittam J. Eosinophilic esophagitis: a novel treatment using Montelukast. *Gut* 52(2), 181-185. 2003.
114. Sinharay R. Eosinophilic esophagitis: treatment using montelukast. *Gut* 52(8), 1228-1229. 2003.
115. Straumann A, Spichtin HP, Grize L, Bucher KA, Beglinger C, and Simon HU. Natural history of primary eosinophilic esophagitis: a follow-up of 30 adults patients for up to 11.5 years. *Gastroenterology* 125, 1660-1669. 2003.
116. Stein HJ, De Meester TR, Peters JH, and Fuchs KH. Technique, indications, and clinical use of ambulatory 24-hour gastric pH monitoring in a surgical practice. *Surgery* 116(4), 758-766. 1994.
117. Grupo español de motilidad digestiva. Técnicas para el estudio de la actividad motora digestiva: protocolos metodológicos. Menarini Labs Barcelona. 2003.



118. Dreborg S, ed. Skin test used in allergy testing. Position paper. Allergy 44 (Suppl. 10), 1-59. 1989.
119. Howard CV and Reed MG. Unbiased stereology. Three-dimensional measurement in microscopy. Bios Scientific Publishers Oxford, U.K. 1998.
120. Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, and West MJ. The new stereological tools: disector, fractionator, nucelator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. APMIS 96, 857-881. 1988.
121. Holgate ST. The epidemic of allergy of asthma. Nature 402, B2-B4. 1999.
122. Von Mutius E, Martinez FD, Fritsch C, Nicolai T, Roell G, and Thiemann H. Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. Am J Respir Crit Care Med 149, 358-364. 1994.
123. Sanjeevi A, Komorowski R, Shaker S, Massey BT, Shaker R, Saeian K, O'Loughlin C, Binion D, and Hogan WJ. Eosinophilic esophagitis potencial sources for diagnostic error in histopathologic detection (abstract). Gastroenterology 128(4) Suppl 2, A-7. 2005.
124. Ruiz-Rebollo ML, Atienza-Sánchez R, and Pérez-Alonso P. A new case of eosinophilic esophagitis. Diseases of the esophagus 17, 176-179. 2004.
125. Martín de carpi J, Gómez Chiari M, Castejón Ponce E, Masiques Mas ML, Vilar Escrigas P, and Varea Calderón V. Aumento del diagnóstico de esofagitis eosinofílica en nuestro medio. An Pediatr (Barc) 62(4), 333-339. 2005.
126. Hoyerup P, Svendsen LB, Mogensen AM, and Staum M. Primary eosinophilic esophagitis. Ugeskr Laeger 168(3), 291-292. 2006.
127. Croese J, Fairley SK, Masson JW, Chong AKH, Whitaker DA, Kanowski PA, and Walker NI. Clinical and endoscopic features of eosinophilic esophagitis in adults. Gastrointest Endosc 58(4), 516-522. 2003.
128. Cantù P, Velio P, Prada A, and Penagini R. Ringed oesophagus and idiopathic eosinophilic oesophagitis in adults: an association in two cases. 37. Dig Liv Dis. 129-134. 2005.
129. Gonsalves N, Kagalwalla A, Kagalwalla A, Hess T, Li BU, and Hirano I. Distinct features in the clinical presentations of eosinophilic esophagitis in children and adults (abstract). Gastroenterology 128(4) Suppl 2, A-7. 2005.
130. Liacouras CA, Spergel JM, Ruchelli E, Verma R, Mascarenhas M, Semeao E, Flick J, Kelly J, Brown-Whitehorn T, Mamula P, and Markowitz JE. Eosinophilic esophagitis: a 10-year experience in 381 children. Clin Gastroenterol Hepatol 3(12), 1198-1206. 2005.
131. Straumann A and Beglinger C. Eosinophilic esophagitis: the endoscopist's enigma. Gastrointest Endosc 63(1), 13-15. 2006.

132. Straumann A, Spichtin HP, Bucher KA, Heer P, and Simon HU. Eosinophilic esophagitis: red on microscopy, white on endoscopy. *Digestion* 70(2), 109-116. 2004.
133. Noel RJ, Putman PE, and Rothenberg ME. Eosinophilic esophagitis. *The New England J Med* 26, 940-941. 2004.
134. Kurata JH, Kantor-Fish S, Frankl H, and et al. Crohn's disease among ethnic groups in a large health maintenance organization. *Gastroenterology* 102, 1940. 1992.
135. Nunes GC and Ahlquist RE, Jr. Increasing incidence of Crohn's disease. *Am J Surg* 145, 578. 1983.
136. Lucendo AJ, Carrión G, Gomez Senent S, Martin Chávarri S, Manceñido N, Pajares R, Gonzalez P, Pascual JM, Herrera M, Kassem A, and Segura JM. Esofagitis eosinofílica del adulto: ¿nueva entidad o diagnóstico tardío? (abstract). *Rev Esp Enf Dig* 96(supl I), 21-22. 2004.
137. Weiss ST and Raby BA. Asthma genetics 2003. *Hum Mol Genet* 13(Suppl 1), R83-9. 2004.
138. Hurme M, Pessi T, and Karjalainen J. Genetics of inflammation and atopy. *Ann Med* 35, 256-258. 2004.
139. Wright AL. The epidemiology of the atopic child: who is at risk for what? (Review). *J Allergy Clin Immunol* 113, S2-3. 2004.
140. Straumann A and Simon HU. Eosinophilic esophagitis: Escalating epidemiology? *J Allergy Clin Immunol* 115(2), 418-419. 2005.
141. Patel SM and Falchuk KR. Three brothers with dysphagia caused by eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc*, 165-167. 2005.
142. Meyer GW. Eosinophilic esophagitis in a father and a daughter. *Gastrointest Endosc* 61(7), 932. 2005.
143. Espinet Coll E, Muñoz-Navas M, Betés M, De la Riva S, Fernández-Urién I, and Carretero C. Distintas formas de presentación endoscópica de la esofagitis eosinofílica. *Rev Esp Enf Dig* 96(supl I), 145-146. 2004.
144. Dahms BB. Reflux esophagitis: sequelae and differential diagnosis in infants and children including eosinophilic esophagitis. *Pediatr Develop Pathol* 7, 5-16. 2004.
145. Morrow JB and et al. The ringed esophagus: histological features of GERD. *Am J Gastroenterol* 96, 984-989. 2001.
146. Prasad GA and Arora AS. Spontaneous perforation in the ringed esophagus. *Dis Esophagus* 18, 406-409. 2005.
147. Lloyd CM and et al. Chemokine receptor (CCR)3/eotaxin is followed by CCR4/monocyte-derived chemokine in mediating pulmonary T helper lymphocyte



- type 2 recruitment after serial antigen challenge in vivo. *J Exp Med* 191, 265-274. 2000.
148. Landres RT, Kuster GGR, and Strum WB. Eosinophilic esophagitis in a patient with vigorous achalasia. *Gastroenterology* 74, 1298-1301. 1978.
  149. Fox VL, Nurko S, Teitelbaum J, Badizadegan K, and Furuta GT. High-resolution EUS in children with eosinophilic "allergic" esophagitis. *Gastrointest Endosc* 57, 30-36. 2003.
  150. Fox VL, Nurko S, Teitelbaum J, and Furuta GT. Abnormalities of the esophageal wall detectec by high-resolution probe endosonography in patinets with allergic esphagitis (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 31, S282. 2000.
  151. Gleich GJ, Frigas E, and Loegering DA. Cytotoxic properties of the eosinophil major basic protein. *J Immunol* 123, 2925-2927. 1979.
  152. Gleich GJ, Glitz DG, and Abu-Ghazaleh RI. Eosinophil granule proteins: structure and function. In: Gleich G KA, ed. *Eosinophils in allergy and inflammation*. New York: Marcel Dekker. 1-20. 1994.
  153. Evans CM, Fryer AD, Jacoby DB, Gleich GJ, and Costello RW. Pretreatment with antibody to eosinophil major basic protein prevents hyperresponsiveness by protecting neuronal M2 muscarinic receptors in antigen-challenged guinea pigs. *J Clin Invest* 100, 2254-2262. 1997.
  154. Adamko DJ, Yost BL, Gleich GJ, Fryer AD, and Jacoby DB. Ovalbumin sensitization changes the inflammatory response so subsequent parainfluenza infection. Eosinophils mediate airway hiperresponsiveness m(2) muscarinic receptor dysfunction and antiviral effects. *J Exp Med* 190, 1465-1478. 1999.
  155. Hempel SL and Elliott DE. Eosinophilic esophagitis causing esophageal dysmotility. *Chest* 110(4), 1117-1120. 1996.
  156. Vitellas KM, Bennet WF, Bova JG, Johnston JC, Caldwell JH, and Mayle JE. Idiopathic eosinophilic esophagitis. *Radiology* 186, 789-793. 1993.
  157. Prieto G, Sánchez-Miranda P, Sarria JM, Larrauri J, and Molina M. Esofagitis eosinofílica: una entidad clínica emergente (abstract). *An Pediatr (Barc)* 59(3), 307-308. 2003.
  158. Matzinger MA and Daneman A. Esophageal involvement in eosinophilic gastroenteritis. *Pediatr Radiol* 13, 35-38. 1983.
  159. McCarty RL and Talley JT. Barium studies in diffuse eosinophilic gastroenteritis. *Gastrointest Radiol* 15, 183-187. 1990.
  160. Gómez Chiari M, Martín de carpi J, Castejón Ponce E, Villegas Villegas P, Masiques Mas ML, and Varea Calderón V. Esofagitis eosinofílica: una entidad en aumento. A propósito de 8 casos. *An Pediatr (Barc)* 59(3), 128. 2003.

161. Lucendo AJ, Carrión G, Martín Chávarri S, Pajares R, Manceñido N, Gómez Senent S, Castillo P, and Pascual JM. Hallazgos manométricos en la esofagitis eosinofílica. Dismotilidad como causa última de la disfagia (abstract). *Rev Esp Enf Dig* 97(supl I), 54-55. 2005.
162. Lucendo AJ, Castillo P, Martín-Chávarri S, Carrión G, Pajares R, Pascual JM, Manceñido N, and Erdozain JC. Manometric findings in adult eosinophilic oesophagitis: A study of 12 cases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* (in press). 2006.
163. Fogg MI, Ruchelli E, and Spergel JM. Pollen and eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 112(4), 796-797. 2003.
164. Nurko S, Fox V, Fortunato C, Antonioli A, Badizadegan K, Teitelbaum J, and Furuta GT. Esophageal motor abnormalities in patients with allergic esophagitis. a study with prolonged esophageal ph/manometry (abstract). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 33(3), 417-418. 2001.
165. De Vault KR and Castell DO. Updated guidelines for the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 94, 1434. 1999.
166. Spechler SJ and Castell DO. Classification of oesophageal motility abnormalities. *Gut* 49, 145-151. 2001.
167. Gonsalves N, Policarpio-Nicolas M, Zhang Q, Rao MS, and Hirano I. Histopathologic variability in eosinophil concentrations in eosinophilic esophagitis necessitates multiple biopsy sampling (abstract). *Gastroenterology* 128(4) Suppl 2, A-7. 2005.
168. Tai PC, Hayes DJ, Clark JB, and Spry CJF. Toxic effects of human eosinophil products on isolated rat heart cells in vitro. *Biochem J* 204, 75-80. 1982.
169. Winqvist I, Ioffson T, Isson I, Pearson A-M, and Allberg T. Altered density, metabolism and surface receptors of eosinophils in eosinophilia. *Immunology* 47, 531-538. 1982.
170. Erjefalt JS. Allergen-induced eosinophil cytotoxicity is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways. *Am J Resp Crit Care Med* 160, 304-312. 1999.
171. Tai PC, Spry CJF, Peterson C, Venge P, and Olsson I. Monoclonal antibodies distinguish between storage and secreted forms of eosinophilic cationic protein. *Nature* 309, 182-184. 1984.
172. Nakajima H, Loegering DA, Kita H, Kephart GM, and Gleich GJ. Reactivity of monoclonal antibodies EG1 and EG2 with eosinophils and their granule proteins. *J Leukoc Biol* 66, 447-454. 1999.
173. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, Howarth PH, and Holgate ST. Quantification of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Resp Dis* 142, 863-871. 1990.



174. Monteseirín J, Llamas E, Muñoz F, Bono MJ, and Conde J. Relationship of blood EG2+ eosinophils in patients with bronchial asthma. *Allergol et immunopathol* 21(3), 97-99. 1993.
175. Gleich GJ, Fryer AD, and Jacoby DB. Eosinophil granule proteins and bronchial hiperreactivity. In Holgate ST, Austen KF, Lichtenstein LM et al editors: *Asthma: Physiology, immunopharmacology and treatment*. Academia Press London. 119. 1993.
176. Gundel RH, Letts LG, and Gleich GJ. Human eosinophil major Basic protein induces airway constriction and airway hiperresponsiveness in primates. *J Clin Invest* 87, 170. 1991.
177. Katz SI, Tamaki K, and Sachs DH. Epitelial Langerhans cells originating in bone marrow. *Nature* 282, 324-326. 1979.
178. Perrault C, Pelletier M, Landry D, and Gyner M. Study of langerhans cells after allogenic bone marrow transplantation. *Blood* 63, 807-811. 1984.
179. De Fraissinette A, Schmitt D, and Thivolet J. Langerhans cells of human mucosa. *J Dermatol* 16, 255-262. 1989.
180. Al Yassin TM and Toner PG. Langerhans cells in the human oesophagus. *J Anat* 122, 435-445. 1976.
181. Geboes K, De Wolf-Peeters C, Rutgeerts P, Janssens J, Vantrappen G, and Desmet V. Lymphocytes and Langerhans cells in the human oesophageal epithelium. *Virchows Arch A Pathol Anat* 401, 45-55. 1983.
182. Terris B and Potet F. Structure and role of Langerhans' cells in the human oesophageal epithelium. *Digestion* 56(suppl), 9-14. 1995.
183. Gielen V, Schmitt D, and Thivolet J. HLA class I antigen (heavy and light chain) expression by langerhans cells and keratinocytes of the normal human epidermis: Ultrastructural quantitaion using immunogold labeling. *Arch Dermatol Res* 280, 131-136. 1988.
184. Murphy GF, Bhan AK, Sato S, Mihm MC, and Harrist TJ. A new immunologic marker for human Langerhans cells. *N Engl J Med* 304, 791-792. 1981.
185. Teunissen MBM. Dynamic nature and function of epidermal Langerhans cells in vivo and in vitro: a review, with emphasis on human Langerhans cells. *Histochem J* 24, 697-716. 1992.
186. Sontheimer RD, Stastny P, and Nunez G. HLA-D region expression by human epidermal Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 87, 707-710. 1986.
187. Rowden G. Expression of Ia antigen on Langerhans cells in mice, guinea pig and man. *J Invest Dermatol* 75, 22-31. 1980.
188. Steinman RM and Nussenzmeig MC. Dendritic cells: Features and function. *Immunol Rev* 53, 127-147. 1980.

189. Cerf-Bensussan N, Schneeberger EE, and Bhan AK. Immunohistologic and immunoelectron microscopic characterization of the mucosal lymphocytes of human small intestine by the use of monoclonal antibodies. *J Immunol* 130, 2615-2622. 1983.
190. Abbas AK, Lichtman AH, and Pober JS. *Inmunología celular y molecular*. Segunda edición. Interamericana-McGraw-Hill Madrid. 1995.
191. Duez C, Tomkinson A, Shultz LD, Bratton DL, and Gelfand EW. Fas deficiency delays the resolution of airway hyperresponsiveness after allergen sensitization and challenge. *J Allergy Clin Immunol* 108(4), 547-556. 2001.
192. White SR and Dorscheid DR. Corticosteroid-induced apoptosis of airway epithelium. *Chest* 122, 278-284. 2002.
193. Schleimer RP. Glucocorticoids suppress inflammation but spare innate immune responses in airway epithelium. *Proc Am Thorac Soc* 1(3), 222-230. 2004.
194. Ryan JJ and Huff TF. Biology of Mast cells. In: *Middletown's Allergy, principles and practise* Philadelphia, Pennsylvania. Mosby Ed. 333-346. 2003.
195. Walsh S, Antonioli D, Goldman H, Fox V, Bousvaros A, Leichtner A, and et al. Allergic esophagitis in children: a clinicopathologic entity. *Am J Surg Pathol* 23, 390-396. 1999.
196. Liacouras C. Eosinophilic esophagitis in children and adults. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 37, S23-S28. 2003.
197. Potter JW, Saecian K, Staff D, Massey BT, Komorowski RA, Shaker R, and et al. Eosinophilic esophagitis in adults: an emerging problem with unique esophageal features. *Gastrointest Endosc* 59, 355-361. 2004.
198. Dauer EH, Freese DK, El-Youssef M, and Thompson DM. Clinical characteristics of eosinophilic esophagitis in children. *Ear Nose Throat J* 114(11), 827-833. 2005.
199. Gupta SP, Kirse DJ, Rostma GN, and Belafsky PC. Eosinophilic esophagitis. *Ear Nose Throat J* 84(10), 632-633. 2005.
200. Parfitt JR, Gregor JC, Suskin NG, Jawa HA, and Driman DK. Eosinophilic esophagitis in adults: distinguishing features from gastroesophageal reflux disease: a study of 41 patients. *Mod Pathol* 7. 2005.
201. Wienbeck M and Barnert J. Epidemiology of reflux disease and reflux esophagitis. *Scand J Gastroenterol* 156 (supp 7). 1989.
202. Vanelli P, Youssef N, Oppenheimer J, and Rosh J. Exploring the link between eosinophilic esophagitis and esophageal foreign bodies in the pediatric population (abstract). *Gastroenterology* 128(4) Suppl 2, A-7. 2005.
203. Ellis FH Jr, Olsen AM, Schlegel JF, and Code CF. Surgical treatment of esophageal hypermotility disturbances. *JAMA* 188, 862. 1964.



204. Reidel WL and Clouse RE. Variations in clinical presentation of patients with esophageal contractions abnormalities. *Dig Dis Sci* 30, 1065. 1985.
205. Clouse RE and Diamant NE. Función motora y sensitiva, y trastornos motores del esófago. En: *Sleisenger & Fordtran Enfermedades Gastrointestinales y hepáticas*. 7ª edición. Buenos Aires: Médica Panamericana . 2004.
206. Straumann A. The physiological and pathological roles of eosinophils in the gastrointestinal tract. *Allergy* 59, 15-25. 2004.
207. Bousquet J, Vignola AM, and Demoly P. Links between rhinitis and asthma. *Allergy* 58, 691-706. 2003.
208. Simon D, Vassina E, Yousefi S, Kozlowski E, Braathen L, and Simon HU. Reduced dermal infiltration of cytokine-expressing cells in atopic dermatitis following short term topical tacrolimus treatment. *J Allergy Clin Immunol* 114, 887-895. 2004.
209. Lake AM. Allergic bowel disease. *Adolesc Med Clin* 15(1), 105-117. 2004.
210. Onbasi K, Sin Az, Doganavsalgil B, Onder GF, Bor S, and Sebik F. Eosinophil infiltration of the esophageal mucosa in patients with pollen allergy during the season. *Clin Exp Allergy* 35, 1423-1431. 2005.
211. Akei HS, Mishra A, Blanchard C, and Rothenberg ME. Epicutaneous antigen exposure primes for experimental eosinophilic esophagitis in mice. *Gastroenterology* 129, 985-994. 2005.
212. Sicherer. Clinical aspects of gastrointestinal food allergy in childhood. *Pediatrics* 111(6), 1609-1616. 2003.
213. American Gastroenterological Association medical position statement: guidelines for the evaluation of food allergies. *Gastroenterology* 120, 1023-1025. 2001.
214. Hill DJ, Heine RG, and Hosking CA. The diagnostic value of skin prick test in food allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 15, 435-441. 2004.
215. Spergel JM, Beausoleil JL, Mascarenhas M, and Liacouras CA. The use of skin prick tests and patch tests to identify causative foods in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 109, 363-368. 2002.
216. Spergel JM, Andrews T, Brown-Whitehorn TF, Beausoleil JL, and Liacouras CA. Treatment of eosinophilic esophagitis with specific elimination diet directed by a combination of skin prick and patch test. *Ann Allergy Asthma Immunol* 95(4), 336-343. 2005.
217. Sampson HA. Update in food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 113, 813-819. 2004.
218. Leung DY and Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet* 361, 151-160. 2003.
219. Spergel JM and Brown-Whitehorn T. The use of patch testing in the diagnosis of food allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* 5, 86-90. 2005.

220. Assa'ad A. Detection of causative foods by skin prick and atopy patch test in patients with eosinophilic esophagitis: things are not what they seem. *Ann Allergy Asthma Immunol* 95(4), 309-311. 2005.
221. Word LJ, Sehmi R, Dorman S, and et al. Allergen-induced increases in bone marrow T lymphocytes and interleukin-5 expression in subjects with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 166, 883-889. 2002.
222. Spergel JM, Mizoguchi E, Brewer JP, Martin TR, Bhan AK, and Geha RS. Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aeroallergen in mice. *J Clin Invest* 101, 1614-1622. 1998.
223. Jayaraman S, Castro M, O'Sullivan M, Bragdon MJ, and Holtzman MJ. Resistance to Fas-mediated T cell apoptosis in asthma. *J Immunol* 162(3), 1717-1722. 1999.
224. Liacouras CA, Wenner WJ, Brown K, and Ruchelli E. Primary eosinophilic esophagitis in children: successful treatment with oral corticosteroids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 26, 380-385. 1998.
225. Bory F, Vázquez E, Forcada P, Viver JM, and Andreu M. Esófagitis eosinofílica como causa de disfagia de 10 años de evolución. *Gastroenterol Hepatol* 21(6), 287-288. 1998.
226. Perrault J, Arora AS, Clawson ML, and Smyrk TC. Treatment of eosinophilic esophagitis with steroid lavage in adult patients (abstract). *Am J Gastroenterol* 96(9), S31. 2001.
227. Gupta SK, Fitzgerald JF, Davis MM, Croffie JM, Pfefferkorn MD, Molleston JP, Corkins MR, and Faught P. Treatment of allergic eosinophilic esophagitis with oral prednisone and swallowed fluticasone: a randomized, prospective study in children. *Gastroenterology* 124(4 suppl. 1), A19 Abs No 149. 2003.
228. Kukuruzovic RH, Elliot EE, O'Loughlin EV, and Markowitz JE. Intervenciones no quirúrgicas para la esofagitis eosinofílica (revisión Cochrane traducida). *Biblioteca Cochrane Plus* 2005, número 1. [www.uptodate-software.com](http://www.uptodate-software.com). 2004.
229. Aceves SS, Dohil R, Newbury RO, and Bastian JE. Topical viscous budesonide suspension for treatment of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 116, 705-706. 2005.
230. Kim YJ, Prussin C, Martin B, Law MA, Haverty TP, Nutman TB, and Klion AD. Rebound eosinophilia after treatment of hypereosinophilic syndrome and eosinophilic gastroenteritis with monoclonal anti-IL-5 antibody SCH55700. *J Allergy Clin Immunol* 114(6), 1449-1455. 2004.
231. Garrett JK, Jameson SC, Thomson B, Collins MH, Wagoner LE, Freese DK, Beck LA, Boyce JA, Filipovich AH, Villanueva JM, Sutton SA, Assa'ad AH, and Rothenberg ME. Anti-interleukin-5 (mepolizumab) therapy for hypereosinophilic syndromes. *J Allergy Clin Immunol* 113(1), 115-119. 2003.



232. Whelan GJ, Blumer JL, Martin RJ, and Szeffler SJ. Fluticasone propionate plasma concentration and systemic effect: Effect of delivery device and duration of administration. *J Allergy Clin Immunol* 116 (3), 525-530. 2005.
233. Fuller R, Johnson M, and Bye A. Fluticasone propionate--an update on preclinical and clinical experience. *Respir Med* 89 Suppl, A3-A18. 1995.
234. Leung SY, Eynott P, Nath P, and Chung KF. Effects of ciclesonide and fluticasone propionate on allergen-induced airway inflammation and remodeling features. *J Allergy Clin Immunol* 115(5), 989-996. 2005.
235. Druilhe A, Letuve S, and Pretolani M. Glucocorticoid-induced apoptosis in human eosinophils: mechanism of action. *Apoptosis* 8(5), 481-495. 2003.
236. Roberts-Thomson IC. Gastrointestinal: Eosinophilic esophagitis. *J Gastroenterol Hepatol* 29, 1299. 2005.
237. De la Santa E, Lazo MD, Cordero C, Serrano M, López T, Bozada JM, and Belda O. Esofagitis eosinofílica. Presentación de tres casos y reflexión sobre el papel de la endoscopia en una enfermedad probablemente infradiagnosticada. Libro de comunicaciones de la XXVI Jornada Nacional de la Sociedad Española de Endoscopia Digestiva, 48. 2004.

## ANEXO I



**Publicaciones del autor relacionadas con esta tesis doctoral.**

Lucendo AJ, Carrión G, Navarro M, Pascual JM, González P, Castillo P, Erdozain JC. **Eosinophilic Esophagitis in adults: An emerging disease.** Digestive Diseases and Sciences 2004 Nov-Dic;49(11-12):1884-8.

Lucendo AJ, Castillo P, Martín-Chávarri S, Carrión G, Pajares R, Pascual JM, Manceñido N, Erdozain JC. **Manometric findings in adult Eosinophilic Oesophagitis. A study of 12 cases.** European Journal of Gastroenterology and Hepatology 2006 (in press).

Lucendo Villarín AJ, Carrión Alonso G, Navarro Sánchez M, Martín Chávarri S, Gómez Senent S, Castillo Grau P, Pascual Turrión JM, González Sanz-Agero P. **Eosinophilic Esophagitis in adults, an emerging cause of dysphagia. Presentation of 9 cases.** Revista Española de Enfermedades Digestivas 2005;97(4):229-239.

Hernán-Pérez Torralba L, Lucendo Villarín AJ, Cantarero de la Barrera E. **Varón joven con esofagitis eosinofílica, una nueva causa de disfagia.** Formación Médica Continuada 2005;12(8):574.

Letrán Camacho A, Caballero Molina MT, Martín Muñoz MF, Lucendo Villarín AJ, López Serrano MC, Martín Esteban M. **Esofagitis eosinofílica: ¿Cuándo debemos pensar en ella?** Clínica Pediátrica 2006 (en prensa).

Lucendo Villarín AJ, Martín Chavarri S, Erdozain Sosa JC, Gómez Senent S, Carrión Alonso G. **Disfagia en paciente alérgico: esofagitis eosinofílica del adulto.** Experiencias Clínicas en la enfermedad péptica esófago-gastro-duodenal. Ed. Acción Médica, Barcelona 2004 (Valorado por el Comité de Selección como el mejor caso clínico del libro).

Gómez Senent S, Lucendo Villarín AJ, Martín Chavarri S, Carrión Alonso G, Manceñido Marcos N, Pajares Villarroya R. **Varón joven con disfagia y antecedentes alérgicos.** Libro de casos clínicos de residentes en patología digestiva 2003. Luzán 5, S.A. de ediciones. Madrid, 2004

Pág 17-19

**Comunicaciones a congresos del autor relacionadas con esta tesis doctoral.**

A.J. Lucendo, G. Carrión, S. Gómez Senent, S. Martín Chavarri, N. Manceñido, R. Pajares, P. González, J. Pascual, M. Herrera, A. Kassem, J.M. Segura. **Esofagitis eosinofílica del adulto: ¿Nueva entidad o diagnóstico tardío?** LXIII Congreso anual de la Sociedad Española de Patología Digestiva. Valencia, junio de 2004.

A.J. Lucendo Villarín, S. Gómez Senent, S. Martín Chavarri, G. Carrión, N. Manceñido, R. Pajares, P. Castillo, J. Pascual Turrión. **Disfagia por esofagitis eosinofílica en adultos. Respuesta al tratamiento esteroideo tópico.** XXVII

Reunión anual de la Sociedad Castellana de Aparato Digestivo (A.C.A.D.). Santander, octubre de 2004.

M.F. Martín Muñoz, A. Lucendo, J.M. Díaz Pena, M. Navarro Sánchez, M. Martín Esteban. **Esofagitis eosinofílica y alergia a alimentos.** XXVI Congreso de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Marbella, octubre de 2004.

A.J. Lucendo, G. Carrión, S. Martín Chavarri, R. Pajares, N. Manceñido, S. Gómez, P. Castillo, J.M. Pascual. **Hallazgos manométricos en la Esofagitis eosinofílica. Dismotilidad como causa última de la disfagia.** LXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Patología Digestiva. Madrid, junio de 2005.

A.J. Lucendo Villarín, G. Carrión Alonso, M. Navarro Sánchez, S. Martín-Chávarri, E. Burgos Lizalde, D. Domingo Senra, J.M. Pascual Turrión. **Hallazgos endoscópicos en la esofagitis eosinofílica: alteraciones del calibre del órgano y del patrón mucoso.** XXVII Jornada Nacional de la Sociedad Española de Endoscopia Digestiva. Madrid, noviembre de 2005.

A.J. Lucendo Villarín, S. Martín-Chávarri, M. Navarro Sánchez, G. Carrión Alonso, L. Hernandez Villalba, J.M. Martín Plaza, J. Larrauri Martínez. **Tumor de células granulares y esofagitis eosinofílica: dos curiosas entidades asociadas en un mismo paciente.** XXVII Jornada Nacional de la Sociedad Española de Endoscopia Digestiva. Madrid, noviembre de 2005.

Letrán A, Caballero T, Lucendo A, Cid B, Martín Esteban, López Serrano MC. **Descriptive Study od Food and Aeroallergens sensitizations in Eosinophilic Esophagitis.** American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting. Miami Beach, Florida 2006.

AJ Lucendo, M Navarro, C Comas, A. Letrán, JM Pascual-Turrión, E Burgos, P Castillo, L Santamaría, MT Caballero. **Capacidad inmunológica del epitelio esofágico humano: Estudio inmunofenotípico mediante estereología aplicado a la Esofagitis eosinofílica.** IX Reunión Anual de la Asociación Española de Gastroenterología. Madrid, marzo de 2006.

Lucendo AJ, Navarro M, Martín-Chávarri S, Pajares R, Pascual JM, Burgos E, Castillo P, Larrauri J. **Endoscopic findings in eosinophilic esophagitis: a morphologic clasification according to manometric and histopathologic relationship.** Digestive Disease Week 2006. Los Angeles, mayo de 2006.



## RELACION DE FIGURAS ANEXADAS EN EL TEXTO

- Figura 1. Páramos que conforman la zona de estudio.
- Figura 2. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 3. Ubicación de la investigación en Colombia.
- Figura 4. Páramos que conforman la zona de estudio y su relación con la zona de estudio.
- Figura 5. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 6. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 7. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 8. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 9. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 10. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 11. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 12. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 13. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 14. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 15. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 16. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.
- Figura 17. Relación de las precipitaciones con la zona de estudio.

## ANEXO 2

## RELACIÓN DE FIGURAS INCLUIDAS EN EL TEXTO.

**Figura 1.** Estructura esquemática de la pared esofágica

**Figura 2.** Relaciones topográficas del esófago

**Figura 3.** Organización histológica del esófago.

**Figura 4.** Esofagograma baritado del Caso 18 con estenosis anillada en un segmento corto de la unión de tercios superior y medio.

**Figura 5.** Esofagograma baritado del paciente 30, que muestra indentaciones intermitentes a lo largo de los 2 tercios distales del esófago.

**Figura 6.** Endoscopias pre-tratamiento del paciente número 2, realizadas en el intervalo de 1 semana. Entre ellas no media tratamiento específico alguno.

**Figura 7.** Impactación cárnica en esófago en el Caso en esófago, sobre mucosa inflamada, erosionada e irregular. Tras el tratamiento esteroideo, resolución de las lesiones.

**Figura 8:** Caso 20: Esófago de calibre reducido, mucosa ondulada, corrugada y con exudados. Tras el tratamiento, solo persiste estriación muy tenue.

**Figura 9.** Distribución de los hallazgos endoscópicos en el calibre esofágico pre y post-tratamiento de nuestros pacientes (en %).

**Figura 10.** Aspecto del esófago del paciente 26 antes y después del tratamiento

**Figura 11.** Calibres y mucosas esofágicas del paciente 9 pre y post-tratamiento esteroideo.

**Figura 12.** Distribución de frecuencias (en %) del aspecto de la mucosa esofágica de nuestros pacientes antes y después del tratamiento.

**Figura 13.** Imágenes correspondientes a los casos 13 y 28 respectivamente, que muestran un epitelio engrosado con elongación de las papilas y celularidad incrementada.

**Figura 14.** Biopsia esofágica con celularidad aumentada y denso infiltrado por leucocitos eosinófilos que confluyen en la porción luminal del epitelio (H-E, 100x).

**Figura 15.** Detalle de la biopsia anterior, en la que se aprecian abscesos de eosinófilos con despegamiento de la porción superficial del epitelio (H-E, 200).

**Figura 16.** A la izquierda, ulceración y marcada destrucción de la superficie tisular por grandes agregados abscesiformes constituidos por eosinófilos. A la derecha, inmunotinción frente a MBP de la misma preparación que muestra eosinófilos activados que desprenden en grandes capas la porción más superficial del epitelio (H-E e inmunoperoxidasa, x100).

**Figura 17.** Histología esofágica del caso 20 antes (izquierda) y después (derecha) del tratamiento. (H-E, x400).



**Figura 18.** Izquierda: Aumento de los espacios intercelulares determinados por edema epitelial y cambios hiperregenerativos (H-E x200). Derecha: Vacuolización citoplasmática y aumento de los espacios intercelulares (H-E x400). Obsérvese en ambos casos el infiltrado eosinofílico.

**Figura 19:** Izquierda: Acúmulo intraepitelial de eosinófilos en la superficie del epitelio, formando un verdadero microabsceso (H-E x400). Derecha: Inmunotinción frente a MBP en la misma preparación, que muestra activación de estas células (inmunoperoxidasa x400).

**Figura 20.** Registro manométrico del cuerpo esofágico, correspondiente al Caso 11, que muestra un trastorno motor severo, con aperistalsis casi completa. La onda remarcada es la única peristáltica, pero de baja amplitud.

**Figura 21.** Registro manométrico del cuerpo esofágico, correspondiente al Caso 23, que muestra ondas peristálticas de amplitud muy aumentada en los dos tercios inferiores del esófago (trastorno hipercinético).

**Figura 22.** Evolución temporal del patrón manométrico del cuerpo esofágico (t de Student).

**Figura 23.** Trazado mahométrico del paciente 10 obtenidos antes y después del tratamiento. El primer registro muestra un cuerpo esofágico aperistáltico, con escasas ondas simultáneas de muy baja amplitud. El segundo registro muestra ondas peristálticas de duración y amplitud normales.

**Figura 24.** Representación gráfica del efecto del tratamiento sobre la capacidad para ingerir distintos alimentos, evaluada por los propios pacientes con valores entre 1 (muy mala) y 5 (óptima).

**Figura 25.** Valoración de la mediana de capacidad de la ingesta de cada alimento antes y después del tratamiento con esteroides tópicos.

**Figura 26.** Representación del efecto del tratamiento sobre la calidad de vida de los pacientes.

**Figura 27.** Molestias de la aplicación del tratamiento.

**Figura 28.** Cuantificación de la densidad de distintos elementos celulares en muestras de epitelio del tercio superior esofágico, y su representación comparativa para las 3 condiciones ensayadas (esófago normal, ERGE, EE), expresadas como media  $\pm$  DE.

**Figura 29.** Representación del efecto del tratamiento esteroideo tópico en la resolución del infiltrado inflamatorio esofágico.

**Figura 30.** Inmunohistoquímica frente a CD1a (localización topográfica de las células de Langerhans en el epitelio esofágico).

**Figura 31.** Secciones histológicas seriadas correspondientes al paciente 29 antes del tratamiento, teñidas sucesivamente con anticuerpos frente a CD3, CD8, CD4 y CD20.

**Figura 32.** Izquierda: Inmunotinción con un anticuerpo policlonal frente a Ig E sobre una muestra epitelial del paciente 29 (x200). Derecha: Detalle de la imagen previa (x 400) que muestra células plasmáticas de distribución intraepitelial.

**Figura 33.** Inmunotinción frente a Triptasa del epitelio del tercio superior del paciente 17 antes (izquierda) y después (derecha) del tratamiento esteroideo tópico (Inmunoperoxidasa x 200).

**Figura 34.** Preparaciones histológicas del caso 1 a 200 aumentos: A la izquierda, tinción con H-E que muestra eosinófilos permeando el epitelio, más densamente localizados en los estratos superficiales. A la derecha, inmunotinción frente a MBP en la que los eosinófilos activados se localizan preferentemente en las porciones más superficiales del epitelio.

**Figura 35.** Incremento de la expresión basal de IL-5 respecto a la expresión post-tratamiento, cuantificada mediante dos técnicas.

**Figura 36.** Incremento de la expresión previa al tratamiento de Eotaxina-1 (CCL11) respecto a la expresión post-tratamiento, cuantificada mediante dos técnicas.

**Figura 37.** Representación conjunta de la cuantificación de la sobreexpresión basal de los genes de IL-5 y eotaxina-1 (CCL11) en el epitelio de pacientes con EE.

**Figura 38.** Estenosis regular concéntrica sobre mucosa de aspecto normal que impide la observación de la mucosa distal a la misma.

**Figura 39.** Esófago reducido de calibre que muestra anillos de contracción simultánea, que permiten la observación de la mucosa, aunque ocasionalmente pudieran impedir el avance del instrumento.

**Figura 40 (a,b,c,d).** Clasificación de los patrones mucosos esofágicos.

**Figura 41.** Patrón mucoso exudativo, constituido por microabscesos de eosinófilos.

**Figura 42.** Dos casos de desgarró esofágico, manifestados por una disrupción de anillos.

**Figura 43.** Registros manométricos del cuerpo esofágico del paciente 12, obtenidos antes y después de tratamiento esteroideo tópico.

**Figura 44:** Inmunotinciones para CD8, CD4 y CD1a de cortes seriados de epitelio esofágico del paciente número 22, que muestra la organización de linfocitos T y células de Langerhans en lo que se asemeja a un folículo linfóide de localización intraepitelial.

**Figura 45.** Linfocito B (marcado con un anticuerpo monoclonal murino anti CD20) en el epitelio esofágico

**Figura 46.** Epitelio esofágico normal que muestra un pequeño número de mastocitos que tienden a localizarse en la porción basal del mismo (inmunoperoxidasa frente a triptasa x40).